



# **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Ciencias Biológicas**

**Escuela Profesional de Ciencias Biológicas**

## **Toxicidad de los sedimentos marinos de las bahías Tortugas-Casma y Paracas sobre juveniles de *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) “concha de abanico”**

### **TESIS**

Para optar el Título Profesional de Bióloga con mención en  
Hidrobiología y Pesquería

### **AUTOR**

Sofía Rebeca REYES GRIMALDO

### **ASESORES**

Silvia Ysabel AGUILAR LUNA (Asesora interna)

Christian Edgardo PAREDES ESPINAL (Asesor externo)

Lima, Perú

2019

### **DEDICATORIA**

A mi abuela y a mis queridos padres por su infinito amor, apoyo, comprensión y por darme su ejemplo de esfuerzo y dedicación.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Área Funcional de Investigaciones Marino Costeras (AFIMC) de la Dirección General de Investigaciones en Acuicultura (DGIA) del Instituto del Mar del Perú (IMARPE) quienes me dieron la oportunidad y me brindaron las facilidades para realizar mi tesis en el laboratorio de Ecotoxicología Acuática.

A mis queridos asesores; la profesora Silvia Aguilar, por su asesoramiento, la buena predisposición de apoyarme en mi tesis, por sus sabios consejos y por la paciencia y a Christian Paredes, por todos los conocimientos brindados, su asesoramiento y por haberme metido en el campo de la ecotoxicología.

A los profesionales del laboratorio de Ecotoxicología Acuática, Aida Henostroza, Ricardo Dioses y Manuel Mendoza, que de alguna u otra manera me apoyaron en la realización de las pruebas ecotoxicológicas.

A mis padres por darme la posibilidad de estudiar y por brindarme su apoyo incondicional, ustedes son mi motivación para seguir creciendo profesionalmente día a día.

A Rubén Briceño por su comprensión y apoyo motivacional e incondicional.

A mis queridos amigos, Haydeé López, Melissa Herrera e Irving Quinto por el apoyo brindado y por sus sabios consejos.

A mis queridos profesores de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por sus sabias enseñanzas y por ser parte de mi formación profesional.

A los miembros del jurado por las sugerencias para la mejora de mi tesis.

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN .....</b>	<b>14</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>15</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
2.1 La contaminación en los sedimentos .....	4
2.2 Pruebas de toxicidad.....	5
2.3 Pruebas de sensibilidad con tóxicos de referencia .....	7
2.4 Pruebas de toxicidad con sedimentos .....	7
2.5 Selección de organismos autóctonos .....	9
2.6 Pruebas de toxicidad en <i>A. purpuratus</i> .....	10
2.7 Aspectos generales de <i>A. purpuratus</i> “concha de abanico” .....	11
2.7.1 Clasificación taxonómica .....	11
2.7.2 Características biológicas de <i>A. purpuratus</i> “concha de abanico” .....	12
2.7.3 Distribución geográfica .....	13
2.7.4 Concesiones para el desarrollo de la acuicultura .....	14
2.7.5 Producción de <i>A. purpuratus</i> en el Perú .....	14
<b>3. HIPÓTESIS.....</b>	<b>16</b>
3.1 Hipótesis nula:.....	16
3.2 Hipótesis alterna: .....	16
<b>4. OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
4.1 Objetivo general: .....	17
4.2 Objetivos específicos: .....	17

<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
5.1 Centro de desarrollo experimental.....	17
5.2 Área de Estudio.....	17
5.2.1 Bahías Tortugas - Casma.....	18
5.2.2 Bahía de Paracas .....	18
5.3 Estaciones de muestreo .....	18
5.4 Obtención de muestra.....	22
5.4.1 Obtención de <i>A. purpuratus</i> .....	22
5.4.2 Colecta de sedimentos .....	22
5.5 Aclimatación de organismos acuáticos.....	22
5.6 Elutriado de sedimento.....	23
5.7 Pruebas de toxicidad.....	23
5.7.1 Pruebas de sensibilidad o control positivo .....	25
5.7.2 Prueba de toxicidad con sedimentos .....	26
5.7.2.1 Pruebas preliminares (0% / 100%) .....	26
5.7.2.2 Pruebas definitivas.....	27
5.8 Análisis de resultados .....	28
5.8.1 Pruebas preliminares.....	28
5.8.2 Determinación de la concentración letal media (CL <sub>50</sub> %) .....	30
5.8.3 Toxicidad de los sedimentos .....	31
5.9 Diagrama de flujo para el procedimiento de los bioensayos .....	31
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>33</b>

6.1	Prueba de sensibilidad.....	33
6.2	Pruebas con elutriado de sedimentos .....	34
6.2.1	Bahías de Tortugas-Casma.....	34
6.2.1.1	Pruebas preliminares .....	34
6.2.1.2	Pruebas de multiconcentración .....	36
6.2.1.3	Análisis estadísticos para las pruebas de multiconcentración.....	38
6.2.1.4	Parámetros fisicoquímicos.....	39
6.2.1.5	Análisis estadístico de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientoS.....	39
6.2.1.6	Toxicidad .....	40
6.2.2	Bahía de Paracas .....	44
6.2.2.1	Pruebas preliminares .....	44
6.2.2.2	Pruebas de multiconcentración .....	46
6.2.2.3	Análisis estadísticos para las pruebas de multiconcentración.....	47
6.2.2.4	Parámetros fisicoquímicos.....	48
6.2.2.5	Análisis estadístico de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientoS.....	48
6.2.2.6	Toxicidad .....	49
7.	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>53</b>
8.	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>58</b>
9.	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>59</b>
10.	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>60</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Condiciones ambientales usada en la prueba ecotoxicológica de sensibilidad ...	25
<b>Tabla 2.</b> Condiciones ambientales usadas en las pruebas definitivas o de multiconcentración .....	27
<b>Tabla 3.</b> Nivel de toxicidad del sedimento marino a diferentes concentraciones, para valores estadísticamente significativos propuesto por Bay et al. (2014). ....	31
<b>Tabla 4.</b> Resultados de las pruebas preliminares para las estaciones de muestro de las bahías Tortugas-Casma, marzo 2016.....	35
<b>Tabla 5.</b> Resultados de las pruebas preliminares para las estaciones de muestro de la bahía Tortugas-Casma, agosto 2016.....	36
<b>Tabla 6.</b> Valores de significancia de mortandad para las estaciones analizadas de la bahía Tortugas-Casma, marzo 2016.....	38
<b>Tabla 7.</b> Valores de significancia de mortandad para las estaciones de la bahía Tortugas-Casma, agosto 2016.....	39
<b>Tabla 8.</b> Valores de significancia para los parámetros fisicoquímicos al finalizar las pruebas de toxicidad de multiconcentración con sedimentos de las estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, marzo 2016.....	40
<b>Tabla 9.</b> Valores de significancia para los parámetros fisicoquímicos al finalizar las pruebas de toxicidad de multiconcentración con sedimentos de las estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, agosto 2016.....	40
<b>Tabla 10.</b> Resultados de las pruebas preliminares para las estaciones de muestro de la bahía Paracas, abril 2016.....	44
<b>Tabla 11.</b> Resultados de las pruebas preliminares para las estaciones de muestro de la bahía Paracas, setiembre 2016. ....	45

<b>Tabla 12.</b> Valores de significancia de mortandad para las estaciones de la bahía Paracas, setiembre 2016. ....	47
<b>Tabla 13.</b> Valores de significancia de mortandad para las estaciones analizadas de la bahía Paracas, abril 2016.....	48
<b>Tabla 14.</b> Valores de significancia para los parámetros fisicoquímicos al finalizar las pruebas de toxicidad de multiconcentración con sedimentos de las estaciones de muestreo en la bahía paracas, abril 2016. ....	49
<b>Tabla 15.</b> Valores de significancia para los parámetros fisicoquímicos al finalizar las pruebas de toxicidad de multiconcentración con sedimentos de las estaciones de muestreo en la bahía Paracas, setiembre 2016.....	49



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo biológico de la <i>A. purpuratus</i> “concha de abanico” .....	13
<b>Figura 2.</b> Mapa de concesiones para cultivo de <i>A. purpuratus</i> “concha de abanico”. .....	14
<b>Figura 3.</b> Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de la acuicultura, 2016.....	15
<b>Figura 4.</b> Cosecha de <i>A. purpuratus</i> “concha de abanico” en la costa peruana durante los años 2007 – 2016. ....	16
<b>Figura 5.</b> Mapa de ubicación de las estaciones en las bahías Tortugas- Casma, a) marzo, 2016; b) agosto, 2016.....	20
<b>Figura 6.</b> Mapa de ubicación de las estaciones en la bahía de Paracas, 2016, a) abril, 2016; b) setiembre, 2016.....	21
<b>Figura 7.</b> Diseño en bloque completamente aleatorizado (DBCA) .....	24
<b>Figura 8.</b> Árbol de decisión para determinar si es necesario realizar multiconcentración o no. ....	29
<b>Figura 9.</b> Árbol de decisión para determinar el método a utilizar en el cálculo del CL <sub>50</sub> % .....	30
<b>Figura 10.</b> Diagrama de flujo de los bioensayos de toxicidad sobre <i>A. purpuratus</i> . ....	32
<b>Figura 11.</b> Porcentaje de mortalidad de <i>A. purpuratus</i> en función de la concentración de CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O .....	33
<b>Figura 12.</b> Porcentaje de mortandad de <i>A. purpuratus</i> por tratamiento y por estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, marzo 2016.....	37
<b>Figura 13.</b> Porcentaje de mortandad de <i>A. purpuratus</i> por tratamientos y por estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, agosto 2016.....	38
<b>Figura 14.</b> Concentración letal media porcentual (CL <sub>50</sub> %) y nivel de toxicidad de sedimentos por estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, marzo 2016.....	41

<b>Figura 15.</b> Concentración letal media porcentual (CL <sub>50</sub> %) y nivel de toxicidad de sedimentos por estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, agosto 2016.....	42
<b>Figura 16.</b> Toxicidad de sedimentos marinos de las bahías Tortugas-Casma, a) marzo, 2016; b) agosto, 2016.....	43
<b>Figura 17.</b> Porcentaje de mortandad de <i>A. purpuratus</i> por tratamiento y por estaciones de muestreo en la bahía Paracas, abril 2016. ....	46
<b>Figura 18 .</b> Porcentaje de mortandad de <i>A. purpuratus</i> por tratamiento y por estaciones de muestreo en la bahía Paracas, setiembre 2016. ....	47
<b>Figura 19.</b> Concentración letal media porcentual (CL <sub>50</sub> %) y nivel de toxicidad de sedimento por estaciones de muestreo en la Bahía Paracas, abril 2016. ....	50
<b>Figura 20.</b> Concentración letal media porcentual (CL <sub>50</sub> %) y nivel de toxicidad de sedimentos para las estaciones de muestreo en la bahía Paracas, setiembre 2016.....	51
<b>Figura 21.</b> Toxicidad de sedimentos marinos de la bahía Paracas, a) abril, 2016: b) setiembre, 2016. ....	52

## ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Estaciones de muestreo para la colecta de sedimento de la bahía Tortugas-Casma.....	70
<b>Anexo 2 .</b> Estaciones de muestreo para la colecta de sedimento de la bahía Paracas. ...	71
<b>Anexo 3.</b> Valores de los parámetros fisicoquímicos para las pruebas de toxicidad de las estaciones de la bahía Tortugas-Casma, marzo 2016. ....	72
<b>Anexo 4.</b> Valores de los parámetros fisicoquímicos para las pruebas de toxicidad de las estaciones de la bahía Tortugas-Casma, agosto 2016. ....	72
<b>Anexo 5.</b> Valores de los parámetros fisicoquímicos para las pruebas de toxicidad de las estaciones de la bahía P.aracas, abril 2016. ....	73
<b>Anexo 6.</b> Valores de los parámetros fisicoquímicos para las pruebas de toxicidad de las estaciones de la bahía paracas, setiembre 2016. ....	73
<b>Anexo 7.</b> Cultivo y mantenimiento de <i>A. purpuratus</i> .....	74
<b>Anexo 8.</b> Preparación del elutriado del sedimento.....	74
<b>Anexo 9.</b> Homogenización del elutriado.....	75
<b>Anexo 10.</b> Proceso de sedimentación del elutriado.....	75
<b>Anexo 11.</b> Diseño experimental de las pruebas de toxicidad. ....	76
<b>Anexo 12.</b> Diseño experimental de las pruebas de toxicidad.....	76
<b>Anexo 13.</b> Medición de parámetros fisicoquímicos.....	77
<b>Anexo 14.</b> Retiro de organismos muertos de <i>A. purpuratus</i> durante las pruebas de toxicidad.....	77

## LISTA DE ABREVIATURAS

**APHA:** Asociación Americana de Salud Pública (APHA, siglas en inglés).

**ASTM:** Asociación Americana de Ensayo de Materiales (ASTM, siglas en inglés).

**CL<sub>50</sub>:** Concentración Letal Media

**DBCA:** Diseño en bloques completamente aleatorizado.

**DICAPI:** Dirección General de Capitanías y Guardacostas.

**EPA:** Agencia de Protección Ambiental (EPA, siglas en inglés).

**FONDEPES:** Fondo de Desarrollo Pesquero.

**IMARPE:** Instituto del Mar del Perú.

**MINCETUR:** Ministerio de Comercio Exterior y Turismo

**OD:** Oxígeno Disuelto

**OECD:** Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD, siglas en inglés).

**pH:** Potencial de Hidrógeno

**PRODUCE:** Ministerio de la Producción.

**T:** Temperatura.

**USEPA:** Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos.

## RESUMEN

Las zonas marino-costeras reciben gran cantidad de desechos antrópicos que conllevan al deterioro progresivo de la calidad del medio ambiente marino, de los cuales muchos se llegan a almacenar en los sedimentos marinos. El objetivo del presente estudio fue estimar los niveles de toxicidad a partir de la concentración letal media porcentual ( $CL_{50}\%$ ) de los sedimentos provenientes de las bahías Tortugas-Casma y la bahía Paracas expuestos por 96 horas sobre *Argopecten purpuratus*. Estas zonas de estudio presentan alto potencial para el desarrollo acuícola, es así que, esta investigación nos permitirá brindar información para una adecuada toma de decisiones dirigidas a mejorar la condición del ecosistema y asegurar la sostenibilidad de la acuicultura. Se tomaron muestras de sedimentos de ambas zonas de estudio en dos épocas del año. Las pruebas de toxicidad se basaron en los protocolos descritos por la USEPA. Estas pruebas contaron con un diseño experimental en bloques completamente aleatorizado (DBCA) de cinco concentraciones (100%, 50%, 25%, 12.5% y 6.25%), más un control negativo y cuatro repeticiones por concentración. También, se realizó una prueba de sensibilidad con sulfato de cobre como sustancia de referencia. Los sedimentos marinos de las estaciones evaluadas presentaron distintos niveles de toxicidad sobre los juveniles de *A. purpuratus*, los cuales mostraron nula, baja, moderada y alta toxicidad en las bahías de Tortugas-Casma, mientras que en la bahía de Paracas se observó nula, moderada y alta toxicidad. Asimismo, el estudio mostró que *A. purpuratus* presentó sensibilidad al sulfato de cobre, con una  $CL_{50}$  de 0.39 mg/L. Finalmente, se recomienda tomar medidas preventivas para las zonas que resultaron tóxicas en ambas zonas de estudio, con el fin de mejorar las condiciones del ecosistema y a su vez, asegurar la sostenibilidad de la maricultura y la pesca artesanal.

**Palabras clave:** *Argopecten purpuratus*, pruebas de toxicidad, concentración letal media porcentual, sedimentos.

## ABSTRACT

The marine-coastal zones receive a large amount of anthropic waste that leads to the progressive deterioration of the quality of the marine environment, many of which are stored in marine sediments. The objective of the present study was to estimate the toxicity levels from the average percentage lethal concentration ( $LC_{50\%}$ ) of the sediments from the Tortugas-Casma and Paracas bays exposed for 96 hours on *Argopecten purpuratus*. These study areas have high potential for aquaculture development, so this research will allow us to provide information for an adequate decision making aimed at improving the condition of the ecosystem and ensuring the sustainability of aquaculture. Sediment samples were taken from both study areas at two seasons of the year. The toxicity tests were based on the protocols described by the USEPA. These tests had a completely aleatorized experimental block design (DBCA) of five concentrations (100%, 50%, 25%, 12.5% and 6.25%), plus one negative control and four repetitions per concentration. Also, a sensitivity test with copper sulfate was carried out as a reference substance. The marine sediments of the evaluated stations presented different levels of toxicity on the juveniles of *A. purpuratus*, which showed null, low, moderate and high toxicity in the Tortugas-Casma bays, while in the bay of Paracas it was observed null, moderate and high toxicity. Likewise, the study showed that *A. purpuratus* showed sensitivity to copper sulfate, with an  $LC_{50}$  of 0.39 mg / L. Finally, it is recommended to take preventive measures for areas that were toxic in both study areas, in order to improve the conditions of the ecosystem and, in turn, ensure the sustainability of mariculture and artisanal fisheries.

**Keywords:** *Argopecten purpuratus*, toxicity tests, average lethal concentration, sediments.

## 1. INTRODUCCIÓN

El litoral peruano ha sido sometido a diversos contaminantes provenientes de actividades antropogénicas (Cabrera, 2002), especialmente en los últimos años, afectando seriamente a la integridad del ecosistema marino que representa (Ibárcena, 2011).

La calidad ambiental acuática en la Región Ancash, lugar en el que se encuentra la bahía Tortugas-Casma, se encuentra perturbado, debido a los constantes vertimientos de las aguas domésticas no tratadas, así como de la industria minero-metalúrgica ilegal, que generan un cuerpo marino receptor inestable, produciendo un desequilibrio del ecosistema marino, afectando considerablemente la biota y al sustrato del ecosistema marino (IMARPE, 2008).

Según Sánchez *et al.* (1997), en la bahía Paracas se vierten efluentes provenientes de ocho plantas pesqueras productoras de harina y aceite de pescado, encontrándose altos valores de sulfuros, anoxia, temperatura elevada y concentraciones altas de fosfatos y silicatos. Debido a los efluentes pesqueros vertidos en la bahía Paracas durante muchos años, esta bahía ha sido catalogada como zona de contaminación moderada, según la Comisión Permanente del Pacífico Sur (CPPS) (2000). Además, la Dirección General de Capitanías y Guardacostas (DICAPI, 2010; citado por Sánchez *et al.*, 2010) menciona la existencia de 5 derrames petroleros para la zona de Pisco y la bahía Paracas, los cuales se dan desde el año 2000 al 2009. Los derrames por hidrocarburos, generan impactos, produciendo la destrucción de la biota marina y del ambiente en general (Almeida, 2006).

Otra de las actividades por la cual el ecosistema marino se ve afectado es por la maricultura, siendo la “concha de abanico” el recurso de mayor importancia para la maricultura en el Perú. Actualmente, existen concesiones en las bahías Tortugas- Casma

y Paracas, que se encargan de cultivar “conchas de abanico”. Uribe y Blanco (2001), indican que el cultivo de bivalvos y en general las grandes agregaciones de organismos bentónicos, pueden provocar un significativo impacto en los nutrientes y también en el ciclo de energía de los ecosistemas marinos.

Ante todo lo mencionado se puede decir que, las aguas de litoral de las bahías Tortugas-Casma y Paracas reciben los desechos antropogénicos ya sea urbanos e industriales a través de la red de alcantarillado, las cuales llegan directamente al mar y la contaminan. Además, existe también contaminación proveniente de la pesca artesanal y la actividad acuícola realizada en aquellas zonas con *Argopecten purpuratus*. Todos estos compuestos contaminantes llegan a depositarse en los fondos marinos, siendo éstos el hábitat de muchos organismos marinos, los cuales ejercen un efecto negativo al desarrollo de estas comunidades.

Asimismo, se desconoce la situación ambiental actual de las zonas de aprovechamiento de acuicultura en el país, siendo las bahías Tortugas-Casma y Paracas, zonas potenciales para el desarrollo de esta actividad. Este estudio nos permitirá brindar información para una adecuada toma de decisiones dirigidas a mejorar la condición del ecosistema y asegurar la sostenibilidad de la acuicultura realizada en dichas zonas.

Actualmente, en el Perú no existen normas nacionales respecto a los estándares de calidad ambiental de los sedimentos marinos, por ende, con esta investigación se podrá tener una noción más cercana del nivel de toxicidad en el cual se encuentren estos sedimentos.

La concentración de contaminantes en los sedimentos es mayor que en el agua y varía mucho menos en el tiempo y en el espacio, por ello son utilizados preferentemente como matriz ambiental para las evaluaciones. Por tal motivo la toxicidad de los sedimentos está considerada como uno de los índices integrales de la calidad del medio marino (Long y Chapman, 1985). Las pruebas de toxicidad de los sedimentos permiten



tener información sobre la toxicidad de los sedimentos contaminados, ya que miden el efecto de estos contaminantes sobre los organismos prueba (Del Valls *et al.*, 1998). Por tal motivo, es necesario realizar un estudio ecotoxicológico de estos sedimentos para determinar su nivel de toxicidad y así, tomar mayores medidas de prevención y protección de estos ecosistemas.

Existen varias instituciones internacionales (OECD, 1993; ASTM, 1994; USEPA, 1994, 2001) que han estandarizado metodologías para la realización de bioensayos toxicológicos empleando distintos organismos, entre ellos se encuentran los moluscos bivalvos. Muchos moluscos debido a su sensibilidad, son adecuados para emplear en pruebas de toxicidad a corto y largo plazo (APHA, 1995). Dentro de este grupo de moluscos se encuentran los bivalvos que, al ser organismos filtradores, poseen la capacidad de acumular diversos contaminantes del medio (Zuykov *et al.*, 2013), por tal motivo son muy utilizados como indicadores de contaminación (Rainbow, 1995).

Para los bioensayos de toxicidad, debido a que las especies empleadas en los protocolos internacionales no son las mismas que se encuentran en nuestros ecosistemas, es necesario el empleo de especies autóctonas (Giusto, 2015), tal como lo recomienda la USEPA (2002). Es así que, para este estudio se empleará al organismo *Argopecten purpuratus* “concha de abanico”, ya que es una especie propia del litoral peruano. Además de sus características ecológicas y fisiológicas, es un recurso hidrobiológico de gran importancia económica en la acuicultura del país (Baltazar y Palacios, 2015; Argüelles *et al.*, 2011).

*Argopecten purpuratus*, además de pertenecer al grupo comunitario recomendado por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados (USEPA, de sus siglas en inglés) como bioindicador de perturbaciones ambientales, empleado en las evaluaciones de riesgo ambiental, cumple con la mayoría de los criterios establecidos por Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (ASTM, de sus siglas en inglés) (1994) y por la

USEPA (2001) para ser empleada en pruebas de toxicidad de sedimentos: presenta una amplia distribución; está disponible a lo largo de todo el año ya que, es una especie comercial; vive en contacto directo con el sedimento, debido a que es un organismo bentónico; es sensible a sustancias tóxicas asociadas a los sedimentos, es una especie de fácil manejo y mantenimiento bajo condiciones de laboratorio y es de gran importancia económica.

*A. purpuratus* por su capacidad de acumular diversos contaminantes en sus tejidos resulta ser un buen indicador para la evaluación de contaminación (Zapata *et al.*, 2012). Además, esta especie ha sido utilizada de pruebas de toxicidad, expuesta a distintas sustancias tóxicas como metales pesados, entre esos estudios se encuentran los trabajos realizados por Sánchez y Tupayachi (1988), Troncoso *et al.* (2000) y Vera y Pinto (2003), demostrando su alta sensibilidad; es así que, Vera y Pinto (2003) recomiendan el empleo de *A. purpuratus* como una especie representativa de invertebrados en pruebas de toxicidad.

También se han realizado estudios de toxicidad con otras especies del mismo género, tal es el caso de *A. irradians* (Pesch *et al.*, 1979) y *A. ventricosus* (Sobrino-Figueroa *et al.*, 2007), demostrando su sensibilidad frente a sustancias tóxicas. En base a esto, existe la suficiente referencia que indica que las especies de este género son altamente sensibles y por lo tanto son buenas herramientas a emplear en pruebas de toxicidad.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 La contaminación en los sedimentos**

Los sedimentos poseen la capacidad de almacenar y acumular compuestos tanto orgánicos como inorgánicos por lo cual son considerados un componente importante de los ecosistemas acuáticos (Cesar, 2003). La calidad de los sedimentos marinos se puede

ver afectada por el ingreso de componentes de origen antropogénicos, los cuales pueden llevar a cambios considerables en la biota (Rudolph *et al.*, 2005).

La contaminación del sedimento es un problema medioambiental que puede ser considerado como una amenaza para los ecosistemas acuáticos y para la salud humana (USEPA, 1994).

Los sedimentos se contaminan principalmente porque muchos de los compuestos químicos se unen a partículas orgánicas o inorgánicas, las cuales transportan dichos compuestos hacia el fondo de ríos, embalses, lagos, estuarios o aguas marinas (Burton y Landrum, 2003; Mackay, 2001), es así que, los sedimentos se convierten en receptores de compuestos tóxicos llegando a comportarse como una segunda fuente de contaminación (Burton y Landrum, 2003), ya que, las concentraciones de los contaminantes en el sedimento son mayores a las de la fracción disuelta. (Verrengia Guerrero *et al.*, 2003). Por lo tanto, los sedimentos son un componente ecológicamente importante en el hábitat acuático, y son un reservorio natural de contaminación (Chapman, 1989).

Estudios realizados describen que algunos contaminantes como los metales pesados, persisten asociados a los sedimentos, llegando incluso a tener efectos mutagénicos, cuando se acumulan en concentraciones superiores a las encontradas, provocando efectos agudos y crónicos en los organismos que viven o dependen de estos ecosistemas (USEPA, 1999). Las concentraciones de metales en sedimentos pueden llegar a ser entre tres a seis órdenes de magnitud mayor con respecto a los metales en la columna de agua (Bryan y Langston, 1992).

## **2.2 Pruebas de toxicidad**

Las pruebas o bioensayos de toxicidad son aquellos que miden el efecto adverso de sustancias tóxicas sobre un organismo (Chapman, 1995).

Se puede estimar el grado de toxicidad de distintos contaminantes de ecosistemas acuáticos, mediante las respuestas de letalidad de los organismos empleados en las pruebas de toxicidad (César, 2003).

En las pruebas de toxicidad acuática, los grupos de organismos debidamente seleccionados están expuestos a muestras de agua o sedimento, bajo condiciones definidas, con el fin de estimar los posibles efectos adversos (Anderson *et al.*, 2004). Es así que, mediante el empleo de las pruebas de toxicidad se puede obtener información importante sobre el nivel de perturbación de los ecosistemas generando un diagnóstico más eficaz del impacto ambiental y el entendimiento de los efectos que causa la contaminación sobre la biota (César, 2003).

Según Castillo (2004), las pruebas de toxicidad acuática se pueden clasificar según su:

- Duración y frecuencia de exposición del organismo al tóxico: Aguda (corta duración) o crónico (larga duración).
- El método empleado para incorporar la muestra al sistema de ensayo: estáticos, semiestático o de flujo continuo.
- El propósito para el cual son utilizados: control de calidad de vertimientos, evaluación de compuestos específicos, toxicidad relativa, sensibilidad relativa, entre otros.

Las pruebas de toxicidad aguda determinan los efectos adversos de una solución sobre los organismos prueba, en general, en un tiempo de exposición relativamente corto, generalmente de 48 a 96 horas, en este tipo de prueba la respuesta es la mortalidad y los resultados se expresan en valores de concentración letal media ( $CL_{50}$ ) que es la concentración tóxica que causa la mortalidad al 50% de organismos expuestos (Sánchez y Vera, 2001).

## **2.3 Pruebas de sensibilidad con tóxicos de referencia**

Se consideran compuestos tóxicos de referencia a sustancias orgánicas o inorgánicas utilizadas en pruebas de toxicidad, con el fin de garantizar el control de calidad analítica de los organismos a usar en las pruebas (Díaz *et al.*, 2008).

Existen varios compuestos empleados como tóxicos de referencia. La USEPA (1994), sugiere ciertos compuestos para su utilización en controles de calidad, tales como el cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), zinc ( $\text{ZnSO}_4$ ) y cromo ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) como compuestos inorgánicos y el dodecil sulfato de sodio (SDS) como orgánico, estas sustancias se utilizan con el fin de determinar la sensibilidad de los organismos empleados como organismos prueba en los bioensayos de toxicidad. De igual manera, se utilizan con el fin garantizar que las pruebas ecotoxicológicas sean reproducibles mediante intercalibraciones, de esta manera, nos aseguramos que la respuesta de los organismos expuestos a cierto agente tóxico sea a causa del efecto de este y no a variaciones de la sensibilidad de los organismos ni a fallas operacionales durante la realización de las pruebas ecotoxicológicas (EPA, 1990).

## **2.4 Pruebas de toxicidad con sedimentos**

Las pruebas de toxicidad con sedimentos marinos se llevan a cabo exponiendo los organismos vivos al sedimento directamente, a elutriados, o al agua intersticial, ya sea en laboratorio o en el campo (Chapman, 1995). Según la USEPA (1998), el elutriado del sedimento es el extracto acuoso que se obtiene a partir de la homogenización del sedimento con agua de dilución, este es utilizado para análisis químicos y pruebas de toxicidad. Los elutriados de sedimento proporcionan información sobre los efectos tóxicos potenciales de los contaminantes que se encuentran en las partículas de sedimentos (Burton y MacPherson, 1995; citado por Peluso, 2011).

La USEPA en 1977 publicó directrices para la evaluación de la toxicidad de materiales dragados que se desechan en los océanos. Es así que, actualmente muchos

países, están evaluando los sedimentos contaminados y tratando de regular las concentraciones de los contaminantes específicos en los sedimentos (Casado-Martínez *et al.*, 2006a).

El uso de bioensayos de toxicidad con sedimento puede proporcionar información necesaria e importante para establecer prioridades de control en regiones críticas, viabilizar acciones correctivas apropiadas, monitorizar el ecosistema acuático, prevenir, gestionar y remediar los sedimentos contaminados (USEPA, 1994).

Distintos países utilizan diferentes estrategias para bioensayos de toxicidad de sedimentos empleando diferentes especies, se ha realizado ensayos con la bacteria marina luminiscente *Vibrio fischeri*, obteniendo buenos resultados, ya que estos permitirían la caracterización de la toxicidad de los sedimentos (Casado-Martínez *et al.*, 2006b); también se han realizado bioensayos con anfípodos, bioensayos de desarrollo larvario con embriones de erizo de mar sobre los lixiviados de los sedimentos, bioensayos con ostiones y almejas, ensayos con copépodos, ensayos con poliquetos, entre los más estudiados, cada ensayo podrá ser reproducido con éxito sin importar el tipo de sedimento y especie seleccionada (Carballo *et al.*, 2010).

No se han realizado estudios ecotoxicológicos en sedimentos empleando *A. purpuratus*, pero si existen reportes sobre otras especies de bivalvos. Tal es el caso de *Donax obesulus* en Perú, realizándose un estudio con la finalidad de determinar la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) (del cromo en sedimentos marinos y su capacidad de enterramiento en el sedimento frente al cromo, este bioensayo se llevó a cabo con adultos de *D. obesulus*, obteniendo un CL<sub>50</sub> de 61,12 mg·Kg<sup>-1</sup> a las 96 horas de exposición; también se observó un notable efecto subletal sobre su capacidad de enterramiento (Lacma *et al.*, 2007).

Existe un protocolo desarrollado para el bivalvo *Ruditapes philippinarum* para pruebas de toxicidad con sedimentos marinos. Este estudio se llevó a cabo con

sedimentos costeros provenientes de España, se trabajó con 6 muestras de sedimentos en dos periodos de exposición de 7 y 14 días, en un ejercicio interlaboratorio, cuyos resultados demostraron que la medida de la letalidad fue sensible tras el periodo más largo de exposición (Casado-Martínez *et al.*, 2006c).

## **2.5 Selección de organismos autóctonos**

Para las pruebas de toxicidad, debido a que las especies empleadas en los protocolos internacionales no se encuentran en nuestros ecosistemas, es necesario el empleo de especies autóctonas (Giusto, 2015), tal como lo recomienda la USEPA (2002).

Se deben considerar distintos criterios para seleccionar una especie autóctona como organismo prueba, los cuales deben indicar una sensibilidad semejante a las especies empleadas en protocolos estandarizados. (Peluso, 2011).

Los criterios que se deben considerar para seleccionar una especie prueba para bioensayos con sedimentos según ASTM (1994) y USEPA (2001), son los siguientes:

- Sensibilidad a sustancias tóxicas asociadas a sedimentos,
- Relevancia ambiental,
- Tiempos cortos de generación,
- Facilidad en el cultivo y mantenimiento en laboratorio,
- Si se encuentra en contacto con el sedimento,
- Tolerancia a las variaciones fisicoquímicas del medio,
- Facilidad de identificación taxonómica,
- Importancia ecológica,
- Localización geográfica en relación al sitio de estudio,
- Compatibilidad con la metodología de ensayo y los puntos finales seleccionados.

Una de las especies propias del litoral peruano que cumple con las características antes mencionadas es *A. purpuratus* “concha de abanico”, por tal motivo se decidió trabajar con esta especie.

## **2.6 Pruebas de toxicidad en *A. purpuratus***

Se han realizado bioensayos de toxicidad en *A. purpuratus*, empleando tóxicos de referencia.

En 1988, se realizaron pruebas preliminares sobre toxicidad aguda del cobre en *A. purpuratus* de 46 mm de talla. Se llevó a cabo siete bioensayos con concentraciones de cobre que variaron de 0,007 a 0,74 ppm durante 96 horas, obteniéndose un valor de 0,13 ppm de concentración letal media (CL<sub>50</sub>). (Sánchez y Tupayachi, 1988).

Troncoso *et al.* (2000), llevaron a cabo un estudio exponiendo a juveniles de *A. purpuratus* de 20 mm de talla a distintas concentraciones de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) durante 96 horas, obteniendo un CL<sub>50</sub> de 117 ppb y a las 120 horas se observaron daños en la estructura genética.

Vera y Pinto (2003) también realizaron pruebas ecotoxicológicas empleando juveniles de *A. purpuratus*, exponiéndolos frente al cadmio mediante bioensayos de toxicidad durante un tiempo de exposición de 96 horas, ellos obtuvieron una concentración efectiva media (CE<sub>50</sub>) de 354,78 ppb, llegando a comprobar la alta sensibilidad de este organismo.

Se han realizado estudios de toxicidad con otras especies del mismo género. Pesch *et al.*, (1979) realizó pruebas de toxicidad aguda y crónica, empleando a *Argopecten irradians*, se le expuso al cloruro de cobre (CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O), para la prueba de toxicidad aguda de 96 horas se obtuvo una CL<sub>50</sub> de 310 ppb; mientras que, para la prueba crónica de 42 días, el valor de la CL<sub>50</sub> fue de 5 ppb, concluyendo su sensibilidad frente al cobre.



También se analizó la sensibilidad de juveniles de *Argopecten ventricosus* frente al cadmio (Cd), cromo (Cr) y plomo (Pb), el Cd resultó ser un metal dos veces más tóxico que el Pb y ocho veces más que el Cr, obteniendo un CL<sub>50</sub> de 0,396 mg Cd/L, 0,830 mg Pb/L y 3,430 mg Cr/L. Estos resultados sugieren que los juveniles de *A. ventricosus* son más sensibles a estos metales en comparación con otros juveniles de otras especies de bivalvos (Sobrino-Figueroa *et al.*, 2007)

Rodríguez-Satizábal *et al.* (2015), evaluaron los efectos letales y subletales de lodos de perforación sobre juveniles de *Argopecten nucleus*, se realizaron pruebas agudas a 96 horas y crónicas en 30 días, los resultados de todos los lodos empleados tanto para las pruebas agudas y como crónicas fueron “No tóxicos” y de “Toxicidad despreciable”, respectivamente.

## **2.7 Aspectos generales de *A. purpuratus* “concha de abanico”**

### **2.7.1 Clasificación taxonómica**

La clasificación taxonómica de *A. purpuratus* es la siguiente (Mendo *et al.*, 2016):

Phylum: Mollusca

Clase: Bivalvia

Sub-clase: Pteriomorphia

Súper-orden: Euptheriomorphia

Orden: Pectinoida

Súper-familia: Pectinoidea

Familia: Pectinidae

Especie: *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819)

### 2.7.2 Características biológicas de *A. purpuratus* “concha de abanico”

Este molusco bivalvo generalmente habita en bahías semiprotegidas con sustratos sedimentarios (Brand, 2016), encontrándose a una profundidad entre los 5 y 40 metros (Mendo *et al.*, 2016). Es un organismo bentónico, vive en sustratos pedregosos, rocosos, arenosos, arenofangosos, limosos y algosos (Bermúdez *et al.*, 2004). La “concha de abanico” es un molusco filtrador y según Balducci y Mendo (2011) emplea las branquias tanto para la respiración como para la alimentación. Se alimenta de partículas en suspensión, siendo su principal fuente alimenticia, el fitoplancton, conformado principalmente por diatomeas (microalgas pardas), destacando las especies: *Isochrysis sp.*, *Chaetoceros sp.*, *Skeletonema sp.*, *Navicula sp.*, *Nitzschia sp.*, *Thalassiosira sp.*, *Melosita sp.*, *Cyclotella sp.*, entre otras (Bermudez *et al.*, 2004).

Es un molusco hermafrodita funcional con fecundación externa, expulsa primero el esperma y luego los óvulos, repitiendo este ciclo infinitas veces (Mendo *et al.*, 2008). Según Bermúdez *et al.* (2004), estos organismos cuando alcanzan una talla de 65 mm, llegando a expulsar de 1 a 10 millones de óvulos. Estos autores también indican que el ciclo biológico de la “concha de abanico” comprende cuatro fases: huevo, larva, juvenil y adulto (Figura1).



Figura 1. Ciclo biológico de la *A. purpuratus* “concha de abanico”

Fuente: Ministerio de Comercio Exterior y Turismo (MINCETUR, 2015). Perfil de Mercado y competitividad exportadora de la “concha de abanico”.

### 2.7.3 Distribución geográfica

Presenta una distribución que va desde Corinto en Nicaragua hasta Valparaíso en Chile (Navarro *et al.*, 1991). Los principales bancos naturales en nuestro país se encuentran en la bahía de Sechura, Isla Lobos de Tierra, Isla Blanca, bahía de Samanco, Los Chimus, Las Salinas, Guaynuná, Tortugas, Isla San Lorenzo, Isla El Frontón, bahía Paracas, bahía Independencia, Lagunillas (Mendo *et al.*, 2008).

## 2.7.4 Concesiones para el desarrollo de la acuicultura

Hasta el 2004, el cultivo de conchas de abanico a lo largo del litoral peruano se incrementó a más de 3,3 mil hectáreas, de las cuales el 78,5 % fueron otorgadas en concesión para el desarrollo de cultivos a gran escala, de éstas, la mayor cantidad de hectáreas otorgadas para cultivo de “conchas de abanico” se encuentra en las costas de Ancash con un 56,1 % (MINCETUR, 2015) (Figura 2).

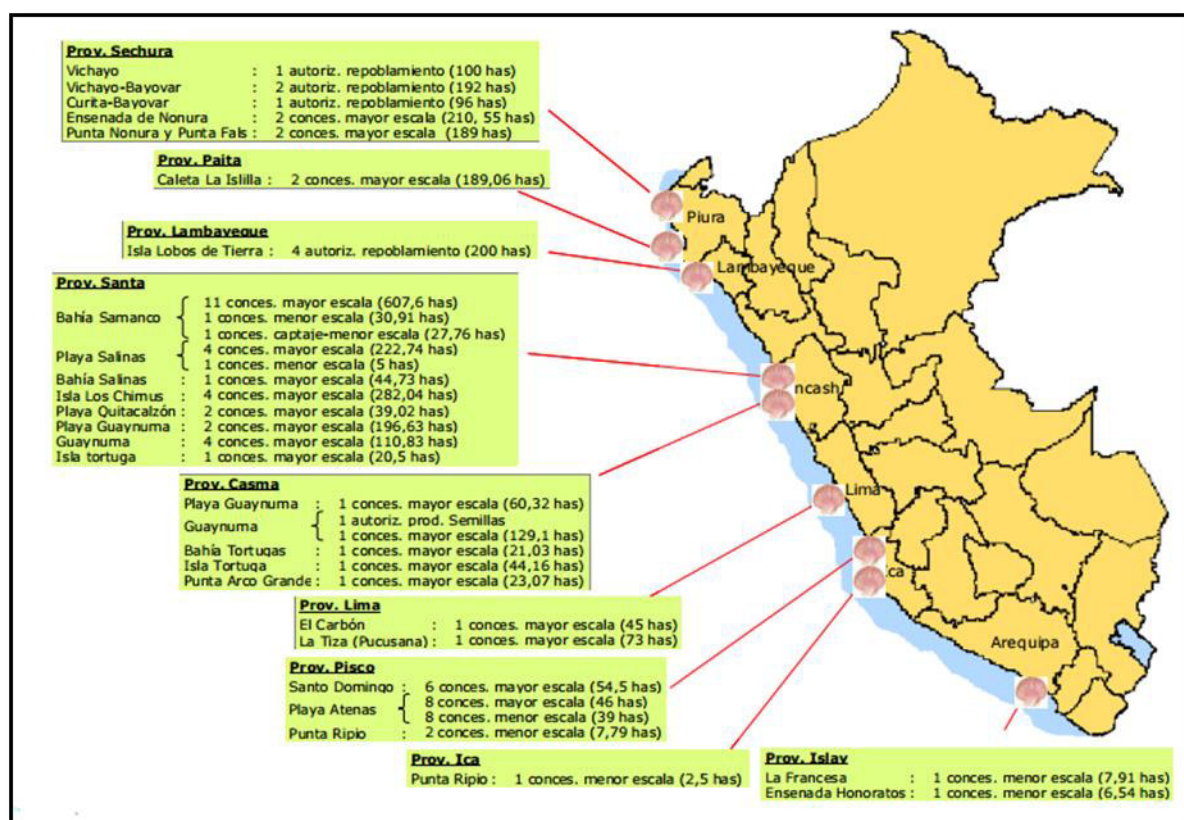


Figura 2. Mapa de concesiones para cultivo de *A. purpuratus* “concha de abanico”.

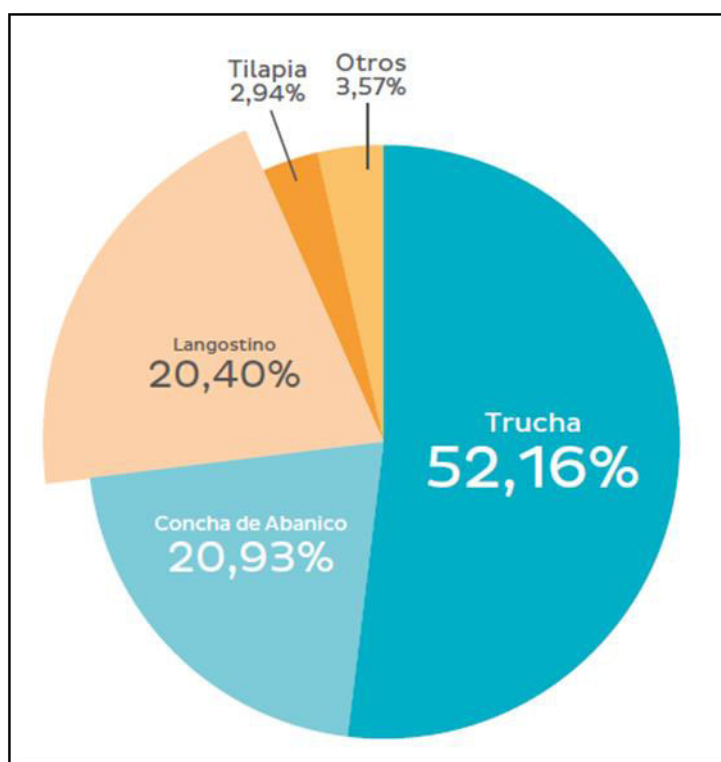
Fuente: MINCETUR (2015)

## 2.7.5 Producción de *A. purpuratus* en el Perú

En el Perú, la acuicultura de moluscos bivalvos se realiza en base a la “concha de abanico”. En los últimos años, la “concha de abanico” viene siendo uno de los moluscos de exportación más importante para el Perú, se han obtenidos altos reclutamientos

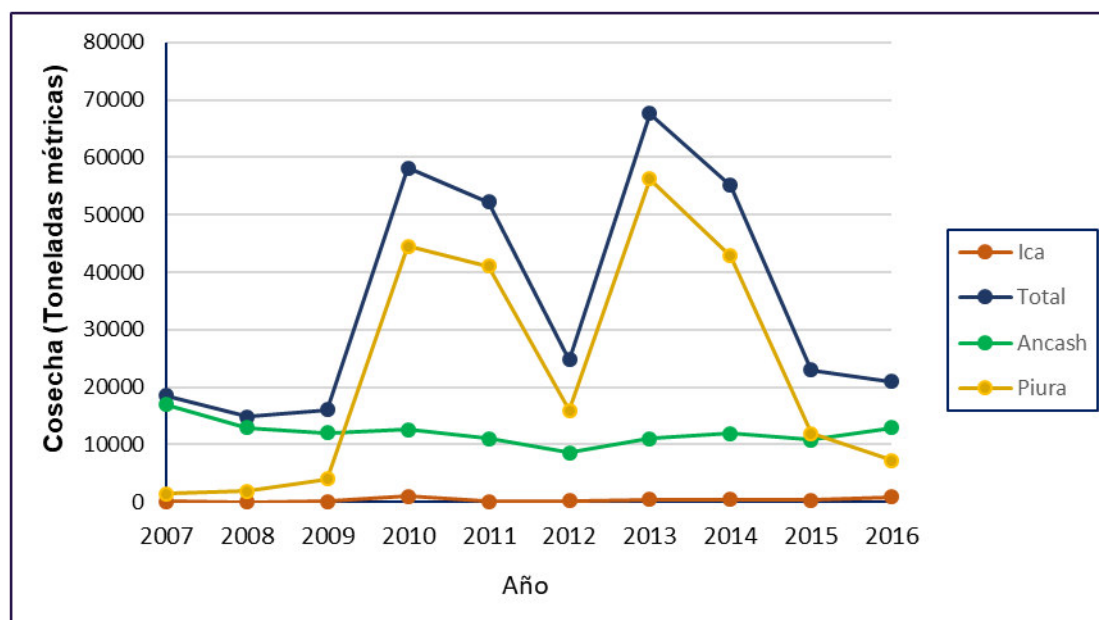
originados por el Fenómeno del Niño, debido a esto se han presentando grandes fluctuaciones en su producción y los más altos desembarques en la costa peruana (Mendo y Wolff, 2002).

El Ministerio de la Producción (PRODUCE) (2016), informa que para el sector acuicultura se ha tenido una producción total de 100 191,45 TM, de donde 20 974,99 TM corresponde a la producción total de “concha de abanico”, constituyendo así el 20,93 % de la producción total de la acuicultura (Figura 3). Asimismo, indica que la región de Ancash y Piura permanecen como las principales zonas de producción de concha de abanico (Figura 4).



**Figura 3. Cosecha de recursos hidrobiológicos procedentes de la actividad de la acuicultura, 2016.**

**Fuente: PRODUCE. Anuario estadístico pesquero y acuícola 2016.**



**Figura 4. Cosecha de *A. purpuratus* “concha de abanico” en la costa peruana durante los años 2007 – 2016.**

**Fuente: PRODUCE. Anuario estadístico pesquero y acuícola 2016.**

**Elaboración: Propia**

### 3. HIPÓTESIS

#### 3.1 Hipótesis nula:

- Los sedimentos marinos provenientes de las bahías Tortugas-Casma y Paracas tienen efecto tóxico sobre los juveniles de *Argopecten purpuratus* “concha de abanico”.
- *Argopecten purpuratus* presenta sensibilidad al sulfato de cobre pentahidratado.

#### 3.2 Hipótesis alterna:

- Los sedimentos marinos provenientes de las bahías Tortugas-Casma y Paracas no tienen efecto tóxico sobre los juveniles de *Argopecten purpuratus* “concha de abanico”.

- *Argopecten purpuratus* no presenta sensibilidad al sulfato de cobre pentahidratado.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo general:**

Estimar el nivel de toxicidad de los sedimentos marinos provenientes de las bahías Tortugas-Casma y Paracas sobre juveniles de *Argopecten purpuratus* “concha de abanico”.

### **4.2 Objetivos específicos:**

- Estimar la concentración letal media porcentual (CL<sub>50</sub>%) de los sedimentos marinos provenientes de las bahías Tortugas-Casma y Paracas sobre los juveniles de *Argopecten purpuratus*.
- Determinar la sensibilidad de los juveniles de *Argopecten purpuratus* empleando sulfato de cobre como tóxico de referencia.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Centro de desarrollo experimental**

El presente trabajo de investigación se desarrolló en las instalaciones del Laboratorio de Ecotoxicología Acuática perteneciente al Área Funcional de Investigaciones Marino Costeras (AFIMC) de la Dirección General de Investigaciones en Acuicultura (DGIA) del Instituto del Mar del Perú (IMARPE).

### **5.2 Área de Estudio**

Como parte de los proyectos “Evaluación del estado, presión y respuesta ambiental en las bahías Tortugas-Casma, 2016” y “Evaluación del estado, presión y

respuesta ambiental en la bahía Paracas, 2016”, desarrollados por el AFIMC, se establecieron dos zonas de estudio para la colecta de muestras de sedimento.

### **5.2.1 Bahías Tortugas - Casma**

La primera zona de estudio se ubica entre Tortugas y Casma, la cual está ubicada al norte de Perú, al sureste del departamento de Ancash. El área de estudio comprendió las provincias Del Santa (bahía Los Chimus) y Casma (bahías de Tortugas y Casma). En el área de estudio se llevan a cabo actividades de maricultura mediante el cultivo de “concha de abanico” y pesca artesanal (IMARPE, 2007). En los meses de verano, la zona de estudio presenta la afluencia de las aguas del río Nepeña que aporta sedimentos continentales en el cuerpo marino receptor, además, la descarga continental del río Casma y demás colectores ubicados en el margen costero de la bahía de Casma generan un aporte de sedimento y desechos domésticos alterando el ecosistema de esta área de estudio (Paredes, 2016).

### **5.2.2 Bahía de Paracas**

Las Bahía de Paracas está localizada en la zona Sur del litoral del Perú, en la península de Paracas, esta bahía se encuentra en la Provincia de Pisco en el departamento de Ica, en ella y su espacio marino costero se realizan actividades económicas. El área de estudio comprendió los distritos de Paracas, San Andrés, Pisco y San Clemente, en la provincia de Pisco.

Hacia la zona litoral de la provincia de Pisco al Norte de la Bahía desemboca el río Pisco, que trae aguas de los vertimientos urbanos, agrícolas y mineros que se dan en la cuenca alta, media y baja.

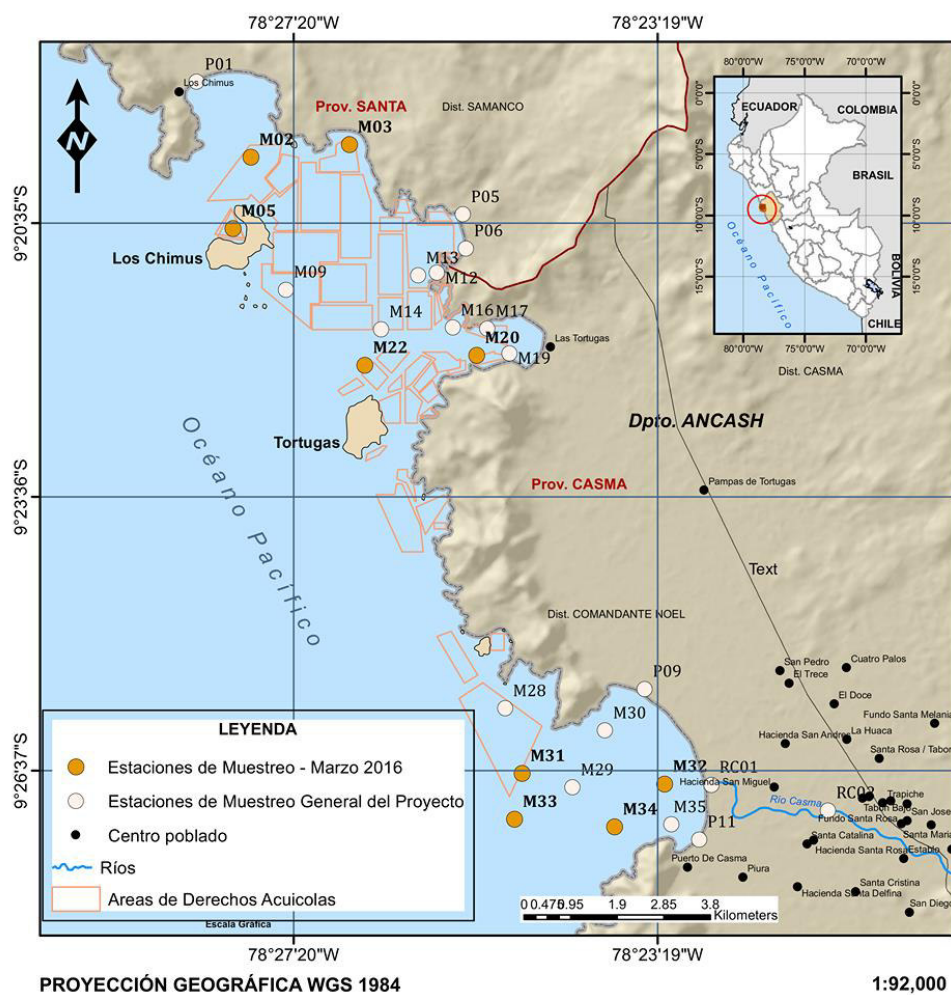
## **5.3 Estaciones de muestreo**

El muestreo en ambas zonas de estudio fue realizado en dos períodos, marzo y agosto para la bahía Tortugas-Casma, mientras que para la bahía de Paracas se llevó a

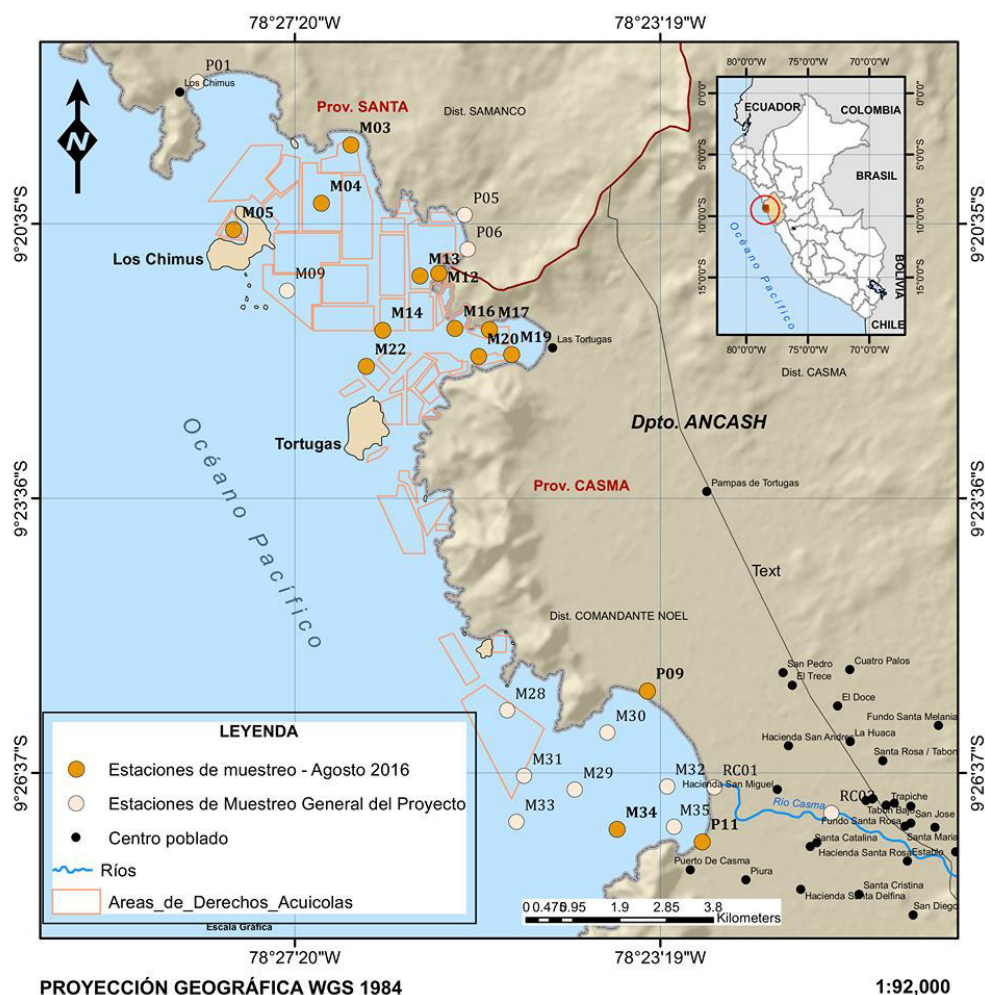


cabo en los meses de abril y setiembre, estos muestreos fueron realizados durante el año 2016. Para las bahías Tortugas-Casma, el proyecto estableció un total de 14 estaciones de muestreo en marzo y 26 estaciones para el mes de agosto, de las cuales se decidió utilizar para la presente investigación, 9 estaciones del mes de marzo (Figura 5a) y 14 estaciones del mes de agosto (Figura 5b). Para la bahía Paracas, se muestrearon un total de 20 estaciones para el mes de abril y 25 estaciones para el mes de setiembre. De estas, se trabajó con 8 estaciones correspondientes al mes de abril (Figura 6a) y 21 estaciones del mes de setiembre (Figura 6b). En ambas zonas, las estaciones de muestreo para la colecta de sedimento se ubicaron en línea de playa y zonas litorales cercanas a la costa.

El criterio de selección de las estaciones de muestreo fue establecido en base a las estaciones que periódicamente monitorean el Laboratorio Costero de Chimbote y el Laboratorio Costero de Pisco, pertenecientes al IMARPE, con el fin de supervisar el entorno ambiental donde se desarrollan actividades de acuicultura, además se consideraron estaciones cercanas a desembocaduras de ríos y otras zonas de actividades económicas (desembarcaderos, asentamientos humanos, industrias pesqueras, entre otros).



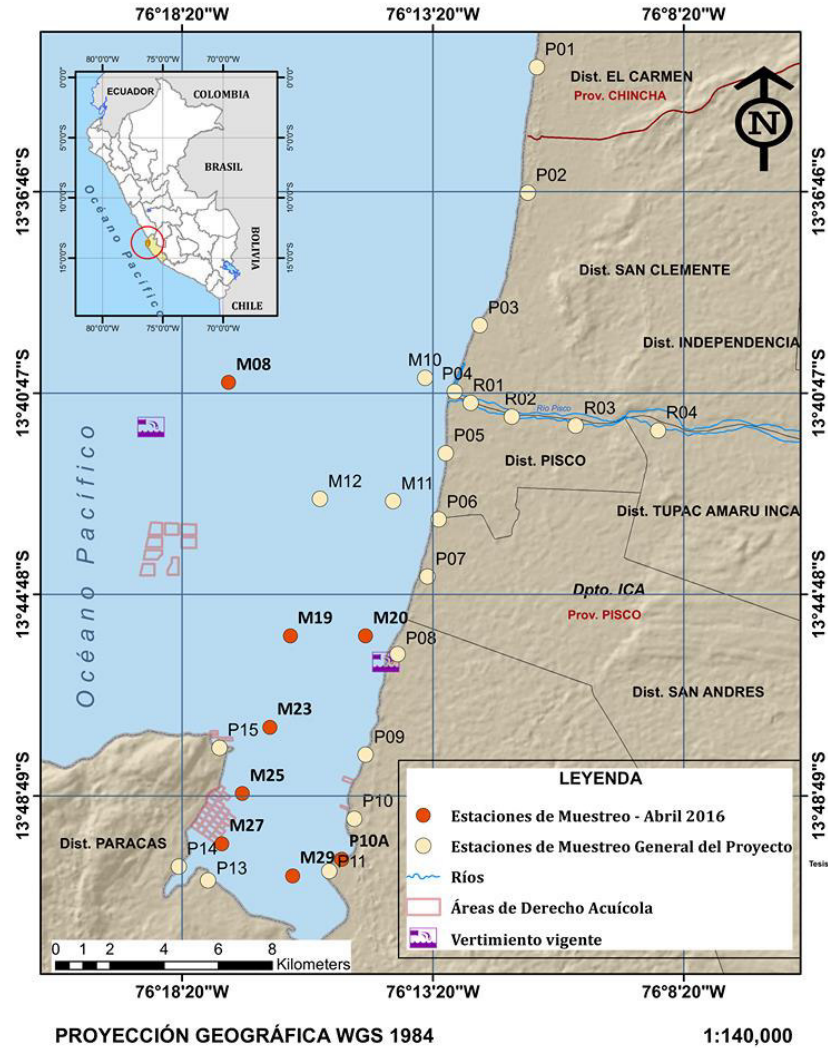
a)



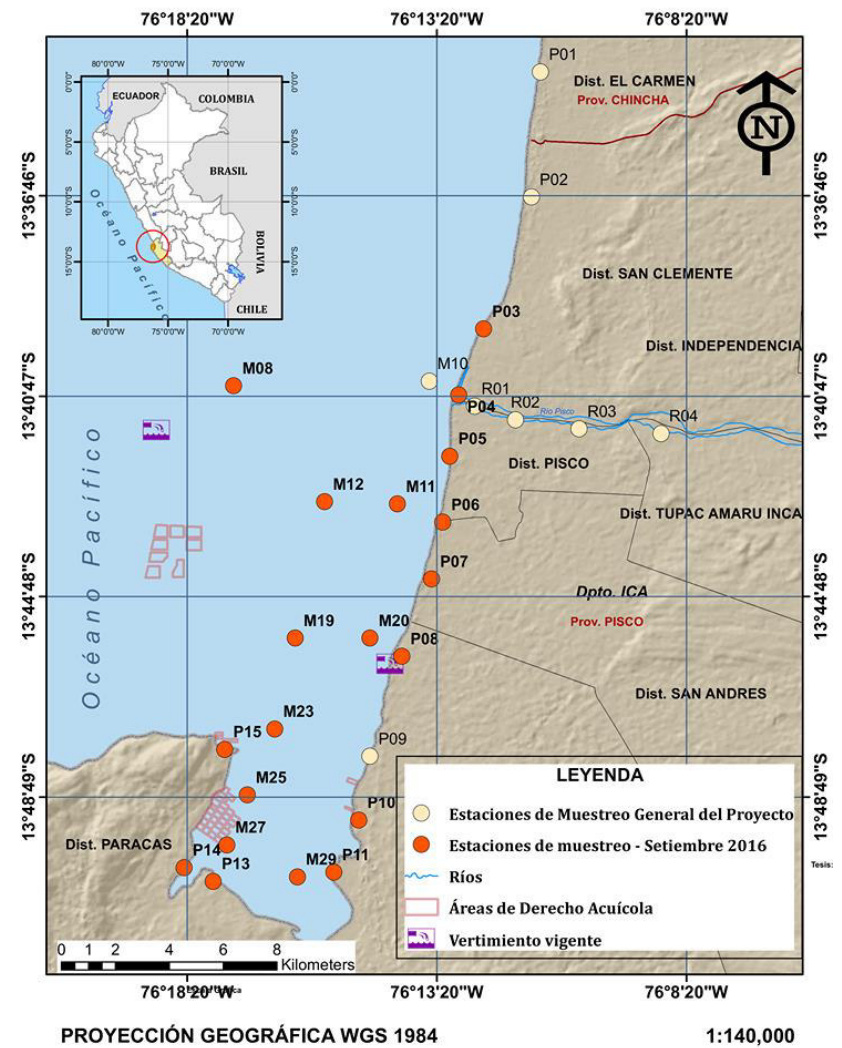
b)

Figura 5. Mapa de ubicación de las estaciones en las bahías Tortugas- Casma, a) marzo, 2016; b) agosto, 2016.

Elaboración: Propia



a)



b)

Figura 6. Mapa de ubicación de las estaciones en la bahía de Paracas, 2016, a) abril, 2016; b) setiembre, 2016.

Elaboración: Propia

## **5.4 Obtención de muestra**

### **5.4.1 Obtención de *A. purpuratus***

Se obtuvo un total de un millar y medio de organismos juveniles de *A. purpuratus* “concha de abanico”, provenientes del centro de cultivo “La Arena”, del Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero (FONDEPES), ubicado en la provincia de Casma de la Región Ancash. El transporte de los juveniles de *A. purpuratus* se realizó en cadena de frío a una temperatura aproximada de 4 °C hasta llegar al laboratorio. Estos organismos fueron utilizados para evaluar la toxicidad de los sedimentos colectados en las zonas de estudio. Las valvas de los mismos fueron minuciosamente seleccionadas con el propósito de evitar organismos con signos de estrés o epifauna.

### **5.4.2 Colecta de sedimentos**

La colecta del sedimento se llevó a cabo durante el año 2016, la cual estuvo a cargo de los profesionales del AFIMC, quienes emplearon para ese fin, una draga Van Veen de 0,05 m<sup>2</sup>. Se tomaron muestras de sedimento en línea de playa y en zonas litorales cercanas a la costa. Los sedimentos para la zona litoral de mar fueron recolectados a una profundidad de 20 m. Luego, las muestras debidamente etiquetadas, fueron transportadas al laboratorio experimental en cadena de frío, manteniéndolas a temperaturas alrededor de los 4 °C.

## **5.5 Aclimatación de organismos acuáticos**

Los individuos de *A. purpuratus* empleados en los bioensayos de toxicidad fueron aclimatados a las condiciones de laboratorio por un período de dos semanas antes de su evaluación. Estos organismos se colocaron en tanques de fibra de vidrio de una capacidad de 200 L, en un rango de 80 a 100 individuos por tanque, siendo la carga máxima de 2 org/L, de esta manera se evitó el hacinamiento y posible estrés. El cambio de agua de los tanques se realizó diariamente, haciendo una limpieza profunda de éstos.

Su alimentación estuvo basada en una mezcla equitativa de dos tipos de microalgas: *Isochrysis galbana* y *Chaetoceros gracilis*, de una densidad aproximada de 2,5 millones cél. /mL, suministrándoles un total de 20 L diarios de microalgas por tanque. Se decidió trabajar con estas especies porque se encuentran entre las microalgas recomendadas por Helm y Bourne (2006) como alimento de bivalvos. Ellos mencionan que las dietas para cultivo de bivalvos que contengan una mezcla de dos o más microalgas de alto valor nutritivo son más beneficiosas, ya que una combinación de estas especies que incluya un flagelado y una diatomea de tamaño adecuado proporciona mejores velocidades de crecimiento y rendimiento que las dietas de una sola especie.

### **5.6 Elutriado de sedimento**

Se realizaron los elutriados de sedimentos de las estaciones de playa y mar que fueron colectados. Este procedimiento se realizó siguiendo la metodología descrita por la USEPA (1998), los sedimentos fueron previamente homogenizados y luego se mezclaron con agua de mar filtrada en una proporción de 1 en 4, se homogenizó la muestra de sedimento con agua durante una hora, luego se dejó sedimentar la mezcla por 24 horas con el objeto de separar la fase líquida de los sedimentos y así, utilizar el sobrenadante.

### **5.7 Pruebas de toxicidad**

Las pruebas ecotoxicológicas se basaron principalmente en la metodología propuesta por la USEPA (2002). Las pruebas fueron realizadas en frascos de polietileno desechable de un litro de capacidad. Para establecer el criterio de mortandad de los ejemplares, se consideró muertos a los individuos que no muestren movimiento del manto por 30 segundos ante una punción.

Se trabajó con un diseño experimental de bloques completamente aleatorizado (DBCA) de 6 x 4 para todas las pruebas de toxicidad realizadas, es decir, 5 concentraciones más un grupo control y cuatro repeticiones por tratamiento, las cuales se distribuirán de manera aleatoria (Figura 7).



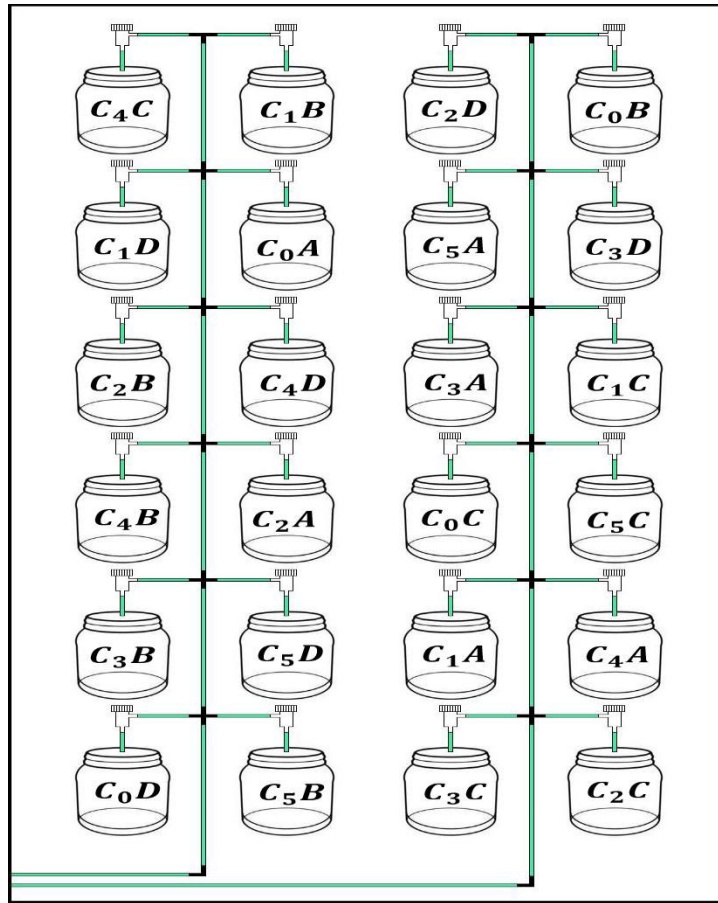
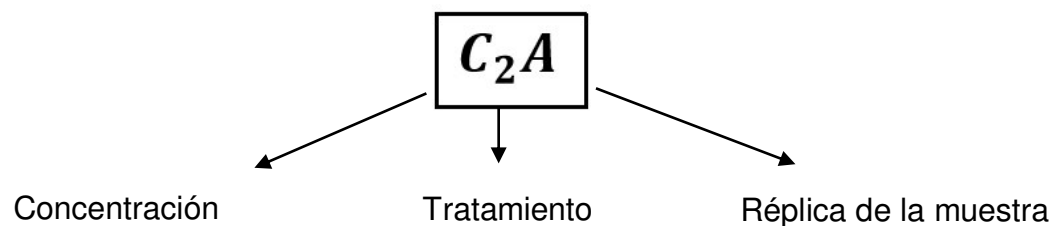


Figura 7. Diseño en bloque completamente aleatorizado (DBCA)

Elaboración: Propia

De donde:



### 5.7.1 Pruebas de sensibilidad o control positivo

Se realizaron bioensayos estáticos empleando sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) como sustancia de referencia. Se trabajó con cinco concentraciones (2 mg/L, 1 mg/L, 0.5 mg/L, 0.25 mg/L y 0.125 mg/L), más un control negativo (sin tóxico), trabajando con cuatro réplicas por cada concentración. Los valores de las concentraciones se basaron en referencia a los valores obtenidos por Sánchez y Tupayachi (1988) y Troncoso *et al.* (2000), quienes obtuvieron un  $\text{CL}_{50}$  que va de 0,117 a 0,74 mg/L.

El período de exposición constó de 96 horas. Las lecturas de sobrevivencia se registraron cada 24 h, se extrajo los organismos muertos, y se midió temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), oxígeno disuelto (mg/L), pH, y salinidad ( $\text{‰}$ ) al inicio, durante y al final de las pruebas. Las condiciones ambientales para el desarrollo de las pruebas ecotoxicológicas con sustancias de referencias se observan en la Tabla 1.

**Tabla 1. Condiciones ambientales usada en la prueba ecotoxicológica de sensibilidad**

PARÁMETROS	CONDICIONES
Tipo de prueba	Estático
Sustancia	Sulfato de cobre pentahidratado
Duración	96 h
Temperatura	18 - 21 $^{\circ}\text{C}$
Salinidad	34 – 36 ups
Tamaño de envase de prueba	1 000 mL
Renovación de agua	Ninguna
Aireación	Aireación continua
Número de organismos por concentración	8
Edad de los organismos	Juveniles (20 – 25 mm)
N° de repeticiones por concentración	4

Calidad del agua	Temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto
Criterio de evaluación de efecto	Mortandad
Expresión de resultados	Efecto tóxico agudo
Criterio de aceptabilidad de las pruebas	< 10 % de mortalidad en los controles

### 5.7.2 Prueba de toxicidad con sedimentos

Las pruebas fueron realizadas en frascos de polietileno desechable de un litro de capacidad. Se utilizó 600 mL del elutriado del sedimento, trabajando con cuatro repeticiones por cada estación, se emplearon ocho individuos juveniles de *A. purpuratus* por tratamiento, mantenidos en mesas de enfriamiento regulados a 19 °C. Las pruebas fueron de tipo estático, sin renovación de agua y sin alimentación. El período de exposición constó de 96 horas (Tabla 2). Durante los bioensayos, los organismos se mantuvieron con un flujo continuo de aire, de aproximadamente tres burbujas por segundo.

#### 5.7.2.1 Pruebas preliminares (0% / 100%)

Con el propósito de reducir el uso de muestras, se sometieron las muestras directamente al organismo prueba sin realizar diluciones, siendo comparada con un control, el cual contenía solo agua de mar filtrada. Para estas pruebas se empleó la concentración al 100 % y el control negativo o concentración al 0 %, trabajando con cuatro repeticiones para ambas concentraciones. Para los casos en los que se detectó diferencias significativas con el control se sometió la muestra a una prueba definitiva o de multiconcentración. Las pruebas de toxicidad serán válidas cuando la mortalidad en el control negativo sea menor al 10%.



### 5.7.2.2 Pruebas definitivas

Las pruebas definitivas o de multiconcentración se trabajaron con la finalidad de determinar la concentración letal media porcentual (CL<sub>50</sub>%), la cual indica la concentración que provoca la mortalidad del 50 % de los organismos del ensayo (Díaz *et al.*, 2008). Siguiendo con la metodología descrita por la USEPA (2002), se trabajó con cinco concentraciones: 6,25 %; 12,5 %; 25 %; 50 % y 100 %, más un control negativo. Las pruebas de toxicidad serán válidas cuando la mortalidad en el control negativo sea menor al 10%. Las condiciones ambientales para el desarrollo de las pruebas ecotoxicológicas con sedimentos se observan en la Tabla 2.

**Tabla 2. Condiciones ambientales usadas en las pruebas definitivas o de multiconcentración**

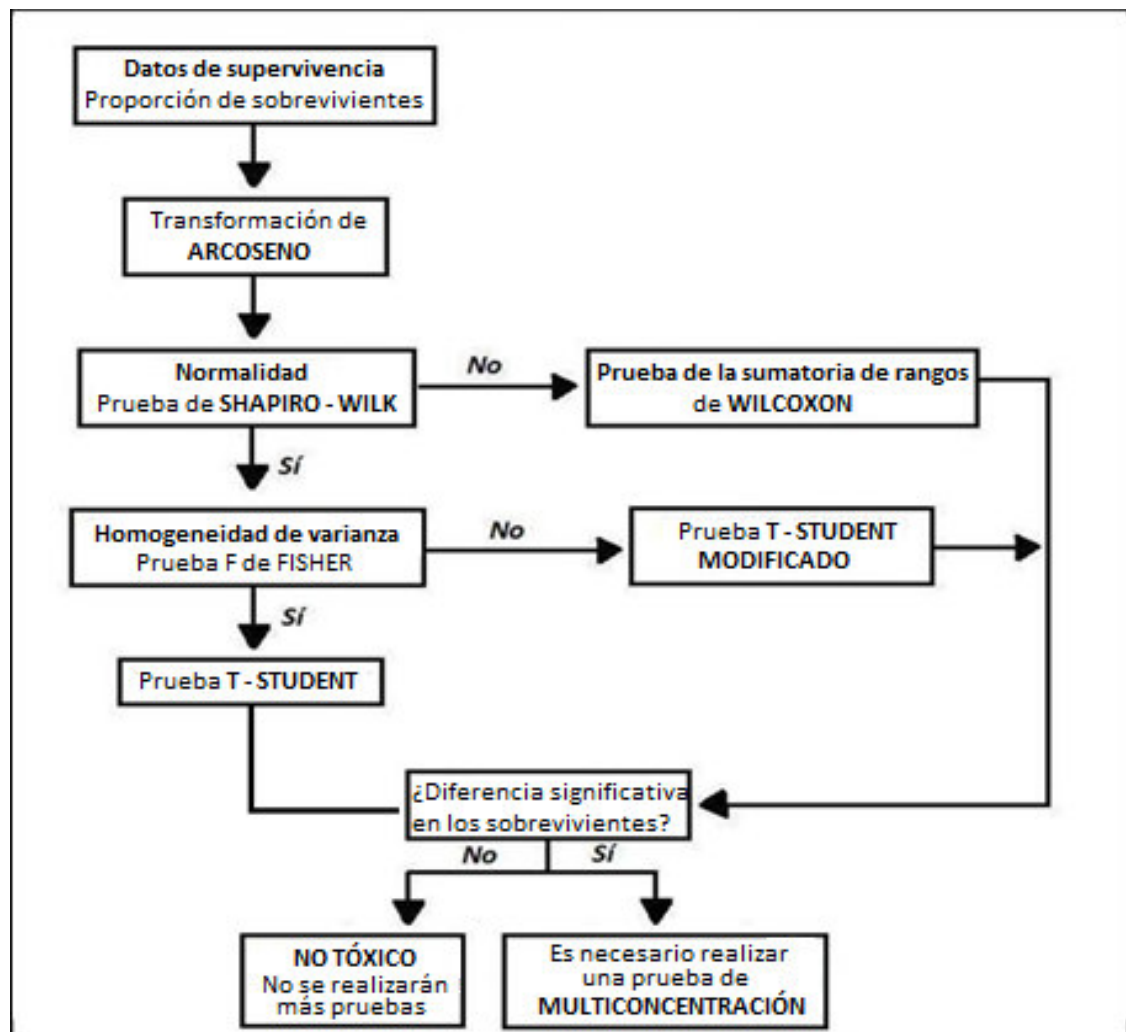
PARÁMETROS	CONDICIONES
Tipo de prueba	Estático
Matriz ambiental	Sedimento marino
Duración	96 h
Temperatura	18 - 21 °C
Salinidad	34 – 36 ‰
Tamaño de envase de prueba	1 000 mL
Renovación de agua	Ninguna, aireación continua
Aireación	Aireación continua
Número de organismos por tratamiento	8
Edad de los organismos	Juveniles (20 – 25 mm)
Nº de repeticiones por concentración	4
Calidad del agua	Temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto
Criterio de evaluación de efecto	Sobrevivencia
Expresión de resultados	Efecto tóxico agudo
Criterio de aceptabilidad de las pruebas	< 10 % de mortalidad en los controles

## **5.8 Análisis de resultados**

Los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (S-W) y homogeneidad de varianzas de Levene's. Las diferencias entre cada tratamiento y réplicas, así como por zonas de estudio se evaluaron mediante un análisis de varianzas (ANOVA) y para determinar dichas diferencias se realizará una prueba de Tukey ( $p = 0,05$ ). En algunos casos fue necesario realizar la prueba de Kruskal-Wallis (k-W) para valores no paramétricos. En todos los casos las diferencias significativas de los resultados fueron evaluados con  $p < 0.05$ .

### **5.8.1 Pruebas preliminares**

Partiendo de los datos de supervivencia, se utilizaron los estadísticos siguiendo el diagrama de flujo que se encuentra en la Figura 8, de esta manera, de existir diferencia significativa de los sobrevivientes, se podrá determinar si es necesario realizar una prueba de multiconcentración.



**Figura 8. Árbol de decisión para determinar si es necesario realizar multiconcentración o no.**

**Fuente: USEPA (2002).**

### 5.8.2 Determinación de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>%)

Para el cálculo de la CL<sub>50</sub>% se utilizó el método Probit o el método de Spearman-Kärber (TSK), para esto se siguió el diagrama de decisión de la Figura 9. Para la realización de estos métodos se utilizó los softwares suministrado por la USEPA: Probit Analysis Program, versión 1.5 y el Trimmed Spearman – Karber (TSK).

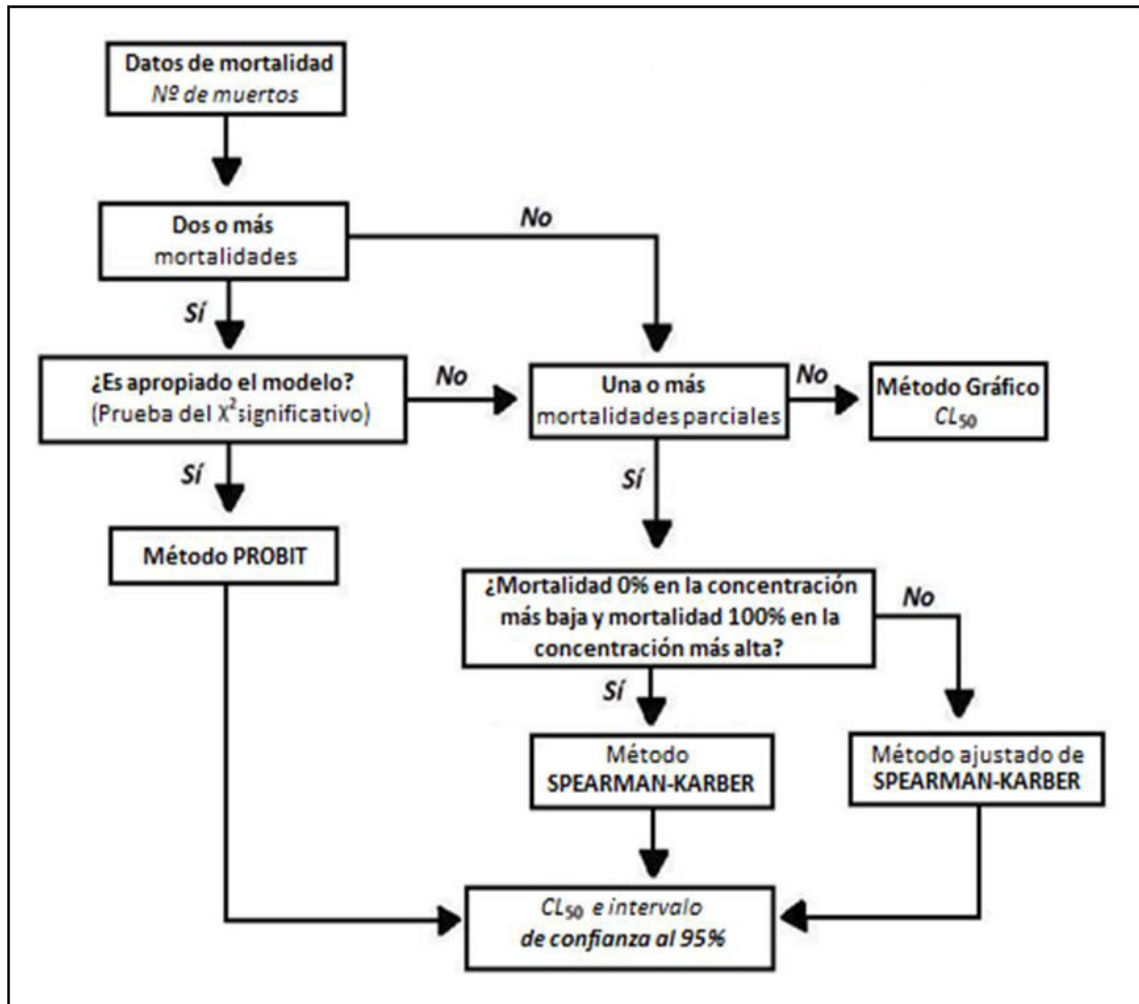


Figura 9. Árbol de decisión para determinar el método a utilizar en el cálculo del CL<sub>50</sub>%

Fuente: USEPA (2002).

### 5.8.3 Toxicidad de los sedimentos

Una vez obtenido los CL<sub>50</sub>% de todas las estaciones de muestreo, se determinó su toxicidad siguiendo los rangos establecidos por Bay *et al.* (2014) (Tabla 3).

**Tabla 3. Nivel de toxicidad del sedimento marino a diferentes concentraciones, para valores estadísticamente significativos propuesto por Bay *et al.* (2014).**

CL <sub>50</sub> (%)	Nivel de toxicidad
	No probado
90 – 100	No tóxico
82 – 89	Baja toxicidad
59 – 81	Moderada toxicidad
< 59	Alta toxicidad

### 5.9 Diagrama de flujo para el procedimiento de los bioensayos

Los procedimientos para la determinación de la toxicidad de los sedimentos provenientes de las Bahías Tortugas-Casma y Paracas empleando a juveniles de *A. purpuratus*, se observa en la figura 10.

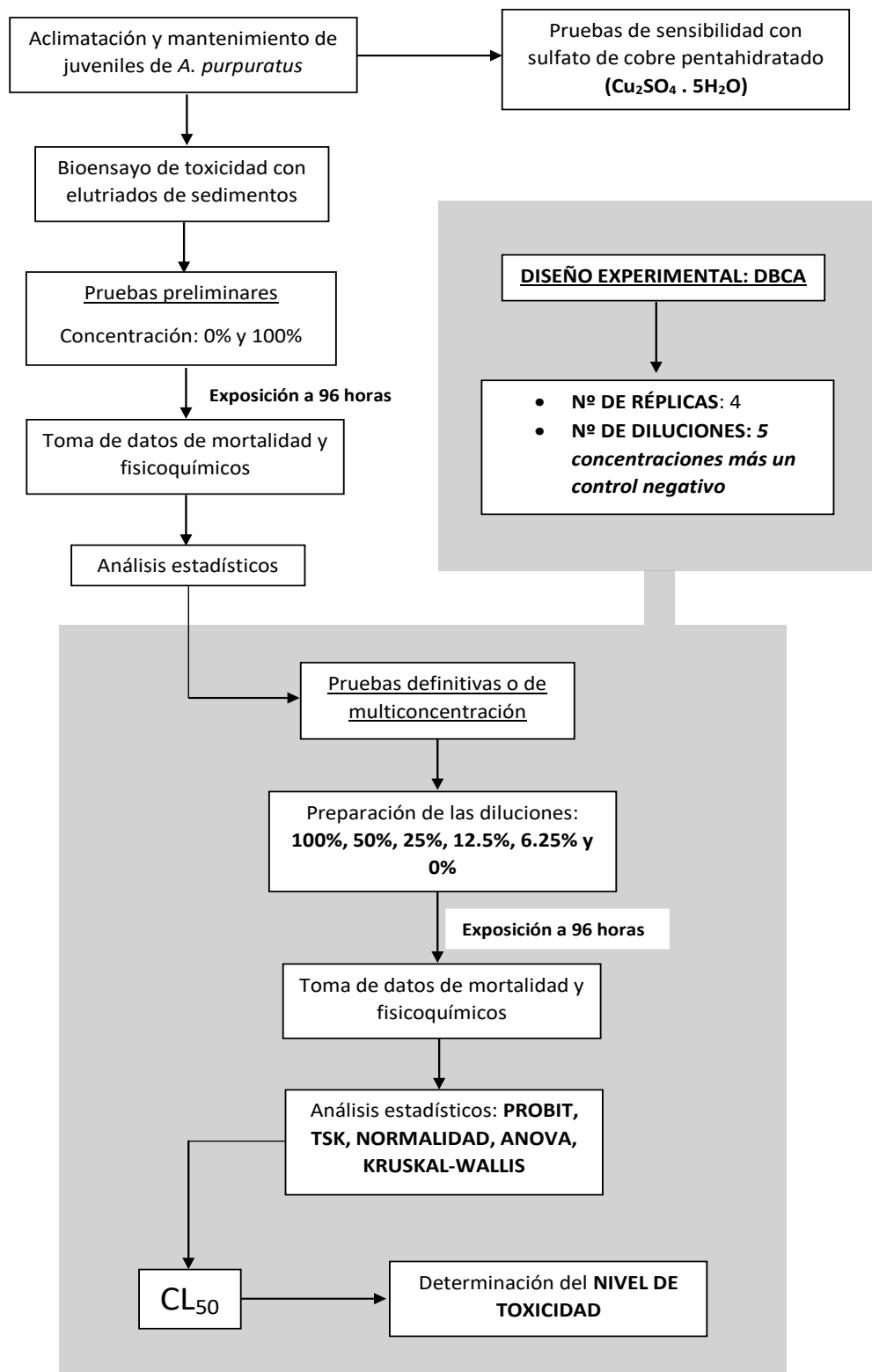


Figura 10. Diagrama de flujo de los bioensayos de toxicidad sobre *A. purpuratus*.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Prueba de sensibilidad

Con la finalidad de comprobar la sensibilidad de *A. purpuratus* a diferentes compuestos tóxicos, se realizó bioensayos utilizando como tóxico de referencia al sulfato de cobre pentahidratado ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ). Los controles negativos presentaron un promedio de mortalidad de 0%.

Los resultados del análisis ecotoxicológico empleando el método Probit se muestran en la Figura 11. Se obtuvo una  $\text{CL}_{50}$  de 0.39 mg/L, con un intervalo de confianza al 95% de 0.33 y 0.45, es decir que a una concentración de 0.39 mg/L de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  causará la mortalidad del 50% de individuos de *A. purpuratus* expuestas durante 96h.

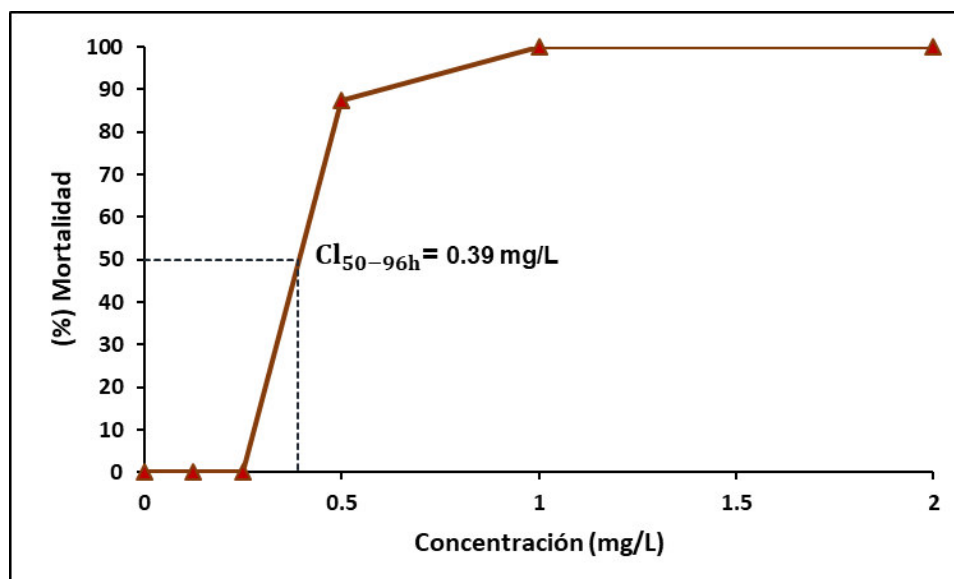


Figura 11. Porcentaje de mortalidad de *A. purpuratus* en función de la concentración de  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

## 6.2 Pruebas con elutriado de sedimentos

### 6.2.1 Bahías de Tortugas-Casma

#### 6.2.1.1 Pruebas preliminares

Siguiendo el árbol de decisión propuesto por la USEPA (2002) para determinar si se procede a realizar una prueba de multiconcentración o no (Ver Figura 8), se obtienen los siguientes resultados:

Antes de decidir qué método de análisis estadístico utilizar para determinar si existe o no diferencia significativa, se realizó una prueba de Shapiro Wilk's, con el fin de determinar si presenta distribución normal, en base a esto se procedió a realizar la prueba de Wilcoxon o la prueba de T de student.

Como se puede observar en la tabla 4, para las estaciones muestreadas durante el mes de marzo, se analizaron 9 estaciones de muestreo, de las cuales, las estaciones de muestro M31 y M34 no presentaron mortalidad, mientras que, de los 7 restantes, la estación M05, M32 y M33 resultaron ser no peligrosas, ya que, al realizar la prueba de Wilcoxon, el valor W calculado ( $W_{\text{cal-M32}} = 15$ ;  $W_{\text{cal-M32}} = 15$ ;  $W_{\text{cal-P10A}} = 22$ ), resultaron ser mayor al valor W de la tabla  $W_{\text{tabla-n=8}} = 11$  para un p-valor  $> 0.05$ , demostrando así, que no existe diferencia significativa.

Para una prueba de t de student con un nivel de significancia de 0.05 con 6 grados de libertad, el valor t crítico es 1.9432. Como la t calculada para la estación M-20, es mayor que la t crítica, la conclusión es que la mortalidad en el 100% de concentración del elutriado del sedimento es significativamente mayor que la mortalidad en el control. Por lo tanto, se procede a continuar con una prueba de multiconcentración.

Para las estaciones M02, M03 Y M22, los datos no cumplen la suposición de normalidad, por lo tanto el análisis apropiado es la prueba de suma de rangos de Wilcoxon, el valor de la suma de rangos para cuatro repeticiones en cada grupo con un nivel de significancia de 0.05 es 11, siendo este valor, mayor al valor calculado ( $W_{\text{cal-M2}} =$



10;  $W_{\text{cal-M3}} = 8$  y  $W_{\text{cal-M22}} = 10$ ), es decir, la mortalidad en la concentración del elutriado es significativamente mayor que la mortalidad del control. Por lo tanto, se procede a realizar pruebas de multiconcentración.

**Tabla 4. Resultados de las pruebas preliminares para las estaciones de muestro de las bahías Tortugas-Casma, marzo 2016.**

Estaciones de muestreo	Método del análisis estadístico	p-valor	Resultado
zbnM20	T de student	p < 0.05, Dif. Sig.	Multiconcentración
M02	Wilcoxon	p < 0.05, Dif. Sig.	Multiconcentración
M03			
M22			
M05	Wilcoxon	p > 0.05, No Dif. Sig.	No tóxico
M32			
M33			
M31	No mortalidad	-	
M34			

Los resultados de los análisis realizados a las pruebas preliminares para las estaciones muestreadas del mes de agosto de las bahías de Tortugas - Casma, se observan en la tabla 5. De las 14 estaciones analizadas, la estación P09, presentó diferencia significativa, ya que el valor de wilcoxon calculado resultó ser menor al valor de la tabla ( $W = 11$ ,  $p < 0.05$ ), asimismo, las estaciones M03, M13, M14, M19, M22 presentaron diferencias significativas, las cuales fueron realizadas mediante la prueba de t de student con un nivel de significancia de 0.05, la t calculada para dichas estaciones, es mayor que la t crítica, la conclusión es que la mortalidad en el 100% de concentración del elutriado del sedimento es significativamente mayor que la mortalidad en el control. Por lo tanto, se procede a continuar con una prueba de multiconcentración. A diferencia de las 8 estaciones restantes, las cuales resultaron ser no peligrosas.

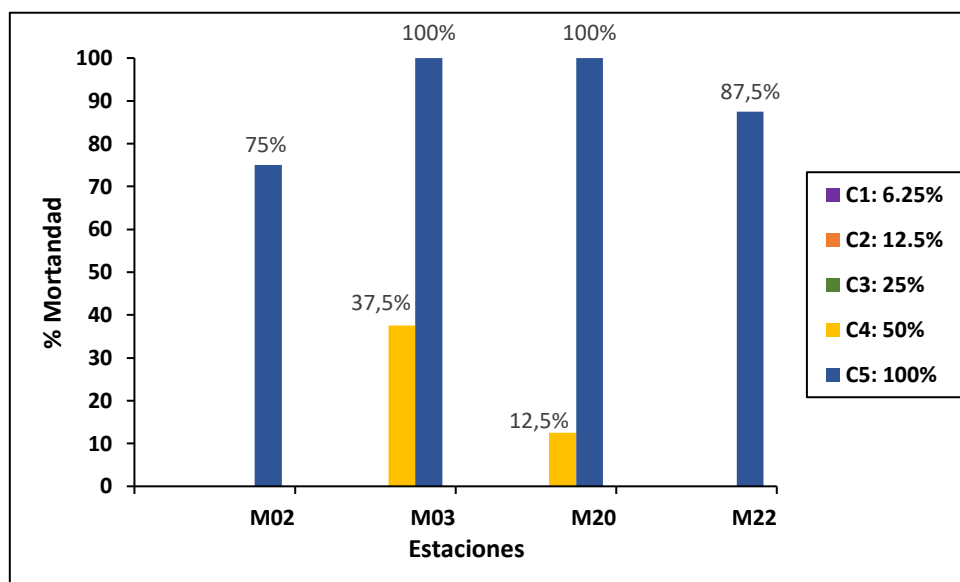
**Tabla 5. Resultados de las pruebas preliminares para las estaciones de muestro de la bahía Tortugas-Casma, agosto 2016.**

Estaciones de muestreo	Método del análisis estadístico	p-valor	Resultado
M03	T de student	$p < 0.05$ , Dif. Sig.	Multiconcentración
M13			
M14			
M19			
M22			
P09	Wilcoxon	$p < 0.05$ , Dif. Sig.	Multiconcentración
M16	Wilcoxon	$p > 0.05$ , No Dif. Sig.	No tóxico
M20			
M04	No mortalidad	-	No tóxico
M05			
M12			
M17			
M34			
P11			

#### 6.2.1.2 Pruebas de multiconcentración

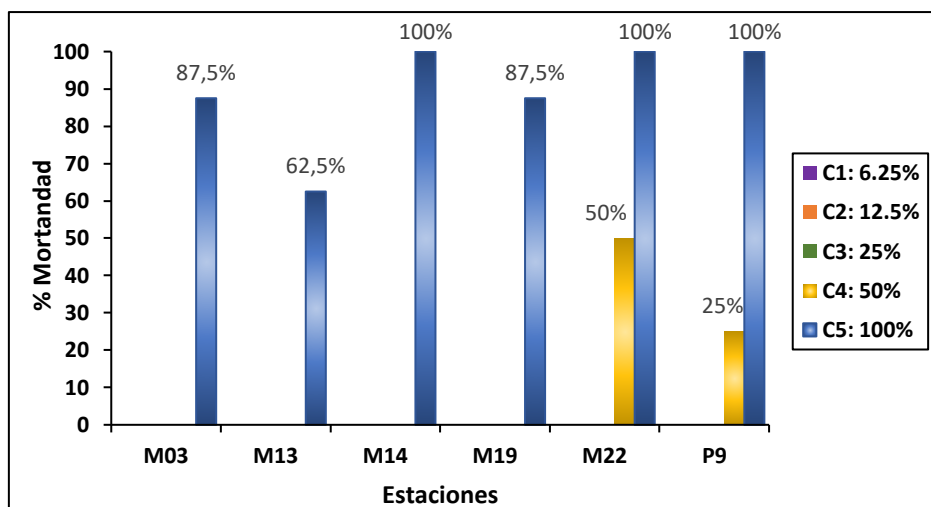
Los resultados de mortalidad de los juveniles de *A. purpuratus* expuestos a las series de diluciones realizadas con el elutriado de los sedimentos provenientes de las Bahías Tortugas-Casma, de los meses de marzo y agosto, se muestran en las figuras 12 y 13.

Como se observa en la figura 12, los elutriados de sedimentos sin diluir (100%) de todas las estaciones indujeron una mortalidad mayor al 70 %. Sin embargo, la respuesta fue variable en el resto de las concentraciones ensayadas. En los experimentos, la mortalidad en el grupo control para todas las estaciones fue de 0 %, por lo tanto, la prueba puede ser considerada válida.



**Figura 12. Porcentaje de mortandad de *A. purpuratus* por tratamiento y por estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, marzo 2016.**

En la figura 13, se puede observar el porcentaje de mortalidad de *A. purpuratus* ante los elutriados de sedimentos provenientes de las bahías Tortugas-Casma del mes de agosto. Para los elutriados de concentración sin diluir (100%), se observa que las estaciones M14, M22 y P09 presentaron una mortalidad del 100%, mientras que las estaciones M03 y M19, tuvieron una mortalidad de 87.5 % y la estación M13 presentó una mortalidad de 62.5%. Por otro lado, para la concentración del elutriado al 50%, la estación M22 presentó una mortalidad del 50% y la estación P09, del 25%. La mortalidad en el grupo control para todas las estaciones fue de 0 %.



**Figura 13. Porcentaje de mortandad de *A. purpuratus* por tratamientos y por estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, agosto 2016.**

#### 6.2.1.3 Análisis estadísticos para las pruebas de multiconcentración

A partir de los resultados que se muestran en la tabla 6 y 7, se demostró que existe diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para las mortalidades medias para cada tratamiento (concentraciones del elutriado) para las estaciones analizadas de los meses de marzo y agosto, con estos resultados se confirma que las pruebas de toxicidad realizadas en este estudio son válidas.

**Tabla 6. Valores de significancia de mortandad para las estaciones analizadas de la bahía Tortugas-Casma, marzo 2016.**

Estación de muestreo	Levene's	Shapiro Wilks	Kruskal Wallis
M02	0.001	0.001	0.011
M03	0.00067	0.272	0.000016
M20	-	0.024	0.000016
M22	0.002	0.001241	0.063

**Tabla 7. Valores de significancia de mortandad para las estaciones de la bahía**

**Tortugas-Casma, agosto 2016.**

<b>Estación de muestreo</b>	<b>Levene's</b>	<b>Shapiro Wilks</b>	<b>Kruskal Wallis</b>
<b>M13</b>	0.00015	0.272	0.006
<b>M14</b>	0.00015	0.272	0.006
<b>M19</b>	0.0002	0.001241	0
<b>M22</b>	0.0002	0.001241	0
<b>P09</b>	0.0000008	0.024	0.001

#### **6.2.1.4 Parámetros fisicoquímicos**

Los parámetros fisicoquímicos registrados al inicio y comparados con los registrados al finalizar cada una de las pruebas de toxicidad definitivas tanto para las estaciones del mes de marzo como para las del mes de agosto, no mostraron variaciones significativas, por lo que se descarta que la mortalidad provocada durante los ensayos se haya debido a cambios bruscos de estos parámetros, ya sea durante las 96 horas de exposición (anexos 3 y 4).

#### **6.2.1.5 Análisis estadístico de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos**

Se analizaron los datos de la medición de los parámetros fisicoquímicos tomados al finalizar de cada una de las pruebas de toxicidad tanto para los datos de las estaciones de ambos meses, demostrando que no existe diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) de la temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg. L<sup>-1</sup>) y el pH (Tablas 8 y 9).

**Tabla 8. Valores de significancia para los parámetros fisicoquímicos al finalizar las pruebas de toxicidad de multiconcentración con sedimentos de las estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, marzo 2016.**

	Pruebas estadísticas											
	Levene's			Shapiro Wilks			ANOVA			Kruskal Wallis		
	OD	pH	T	OD	pH	T	OD	pH	T	OD	pH	T
<b>M02</b>	0.03	0.21	0.02	0.000	0.51	0.001	-	0.46	-	0.21	-	0.05
<b>M03</b>	0.47	0.33	0.37	0.000	0.001	0.000	-	-	-	0.22	0.47	0.15
<b>M20</b>	0.02	0.97	0.03	0.000	0.33	0.000	-	-	-	0.79	0.96	0.73
<b>M22</b>	0.01	0.27	0.02	0.002	0.01	0.000				0.19	0.26	0.48

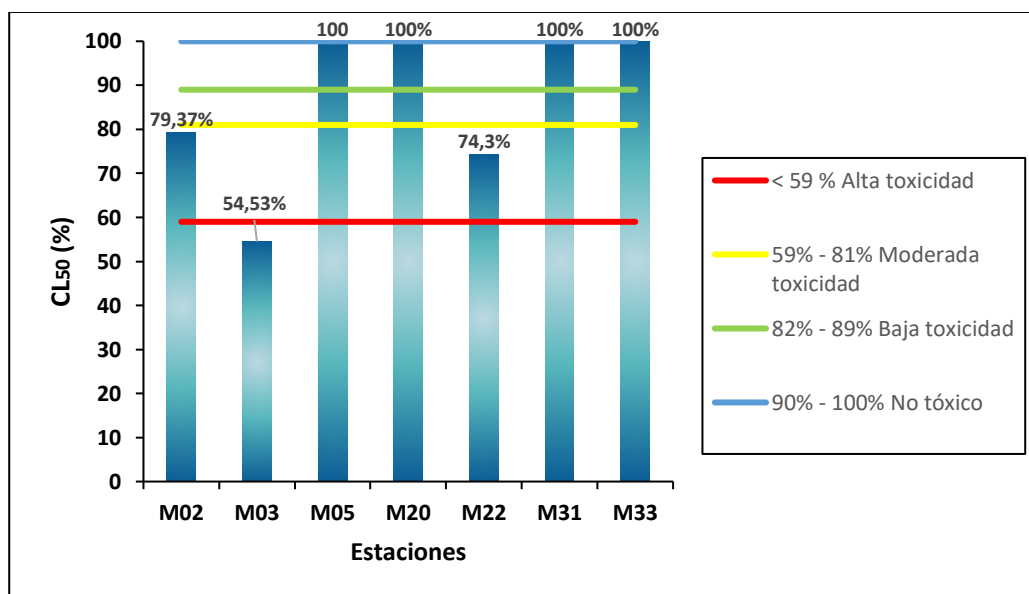
**Tabla 9. Valores de significancia para los parámetros fisicoquímicos al finalizar las pruebas de toxicidad de multiconcentración con sedimentos de las estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, agosto 2016.**

Estación	Pruebas estadísticas											
	Levene's			Shapiro Wilks			ANOVA			Kruskal Wallis		
	OD	pH	T	OD	pH	T	OD	pH	T	OD	pH	T
<b>M03</b>	0.24	0.42	0.56	0.001	0.11	0.001	-	-	-	0.21	-	0.05
<b>M13</b>	0.71	0.32	0.37	0.001	0.001	0.000	-	0.34	-	0.22	-	0.16
<b>M14</b>	0.08	0.97	0.03	0.001	0.33	0.000	-	0.12	-	0.79	-	0.73
<b>M22</b>	0.08	0.29	0.34	0.03	0.01	0.001	0.52	-	-	-	0.26	0.48
<b>P09</b>	0.09	0.12	0.05	0.02	0.001	0.000	-	0.12	-	0.71	-	0.23

#### 6.2.1.6 Toxicidad

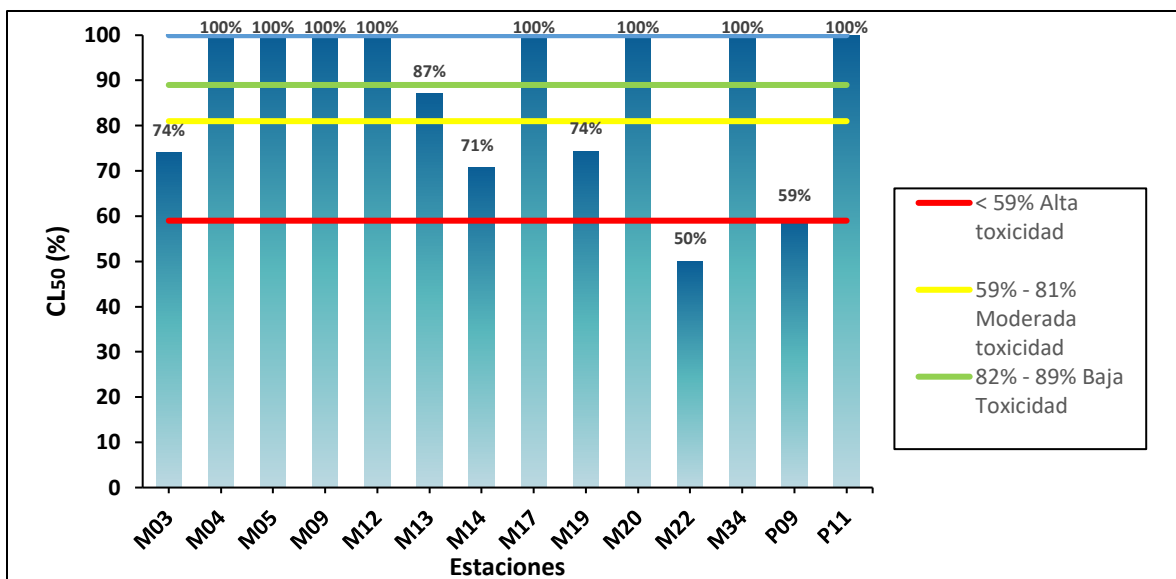
El valor medio de la CL<sub>50</sub>% del elutriado del sedimento calculado para las estaciones analizadas de las bahías Tortugas-Casma, se realizó mediante el método TSK.

Siguiendo los valores propuestos por Bay *et al.* (2014) para estimar el nivel de toxicidad según la concentración letal media ( $CL_{50}\%$ ) (ver Tabla 4), se tiene que, para el mes de marzo, la estación M03 con un  $CL_{50}\%$  de 54.53% presenta una alta toxicidad, mientras que las estaciones M02 y M22 presentan una moderada toxicidad con un  $CL_{50}\%$  de 79.38% y 74.3%, respectivamente (Figuras 14 y 16a).



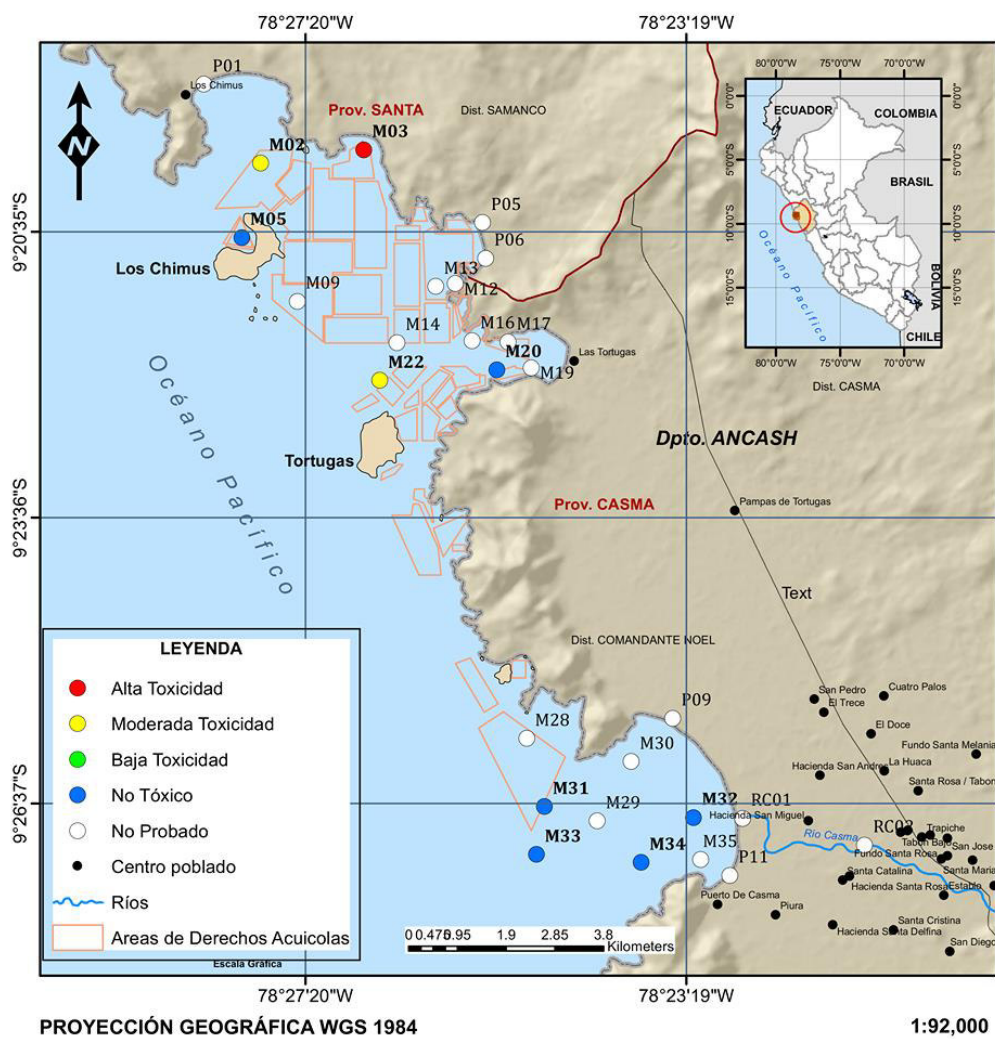
**Figura 14. Concentración letal media porcentual ( $CL_{50}\%$ ) y nivel de toxicidad de sedimentos por estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, marzo 2016.**

Luego de calcular los valores de  $CL_{50}\%$  para las estaciones analizadas del mes de agosto, se puede observar en las figuras 15 y 16b que la estación M22 con un  $CL_{50}\%$  de 50% presentó un alto nivel de toxicidad, mientras que las estaciones M03, M14, M19 y P09 con valores de  $CL_{50}\%$  de 74,3%, 70.71%, 74.3% y 59.46%, respectivamente, resultaron ser moderadamente tóxicas. Por el contrario, la estación M13 con un  $CL_{50}\%$  de 87.06, presentó baja toxicidad.

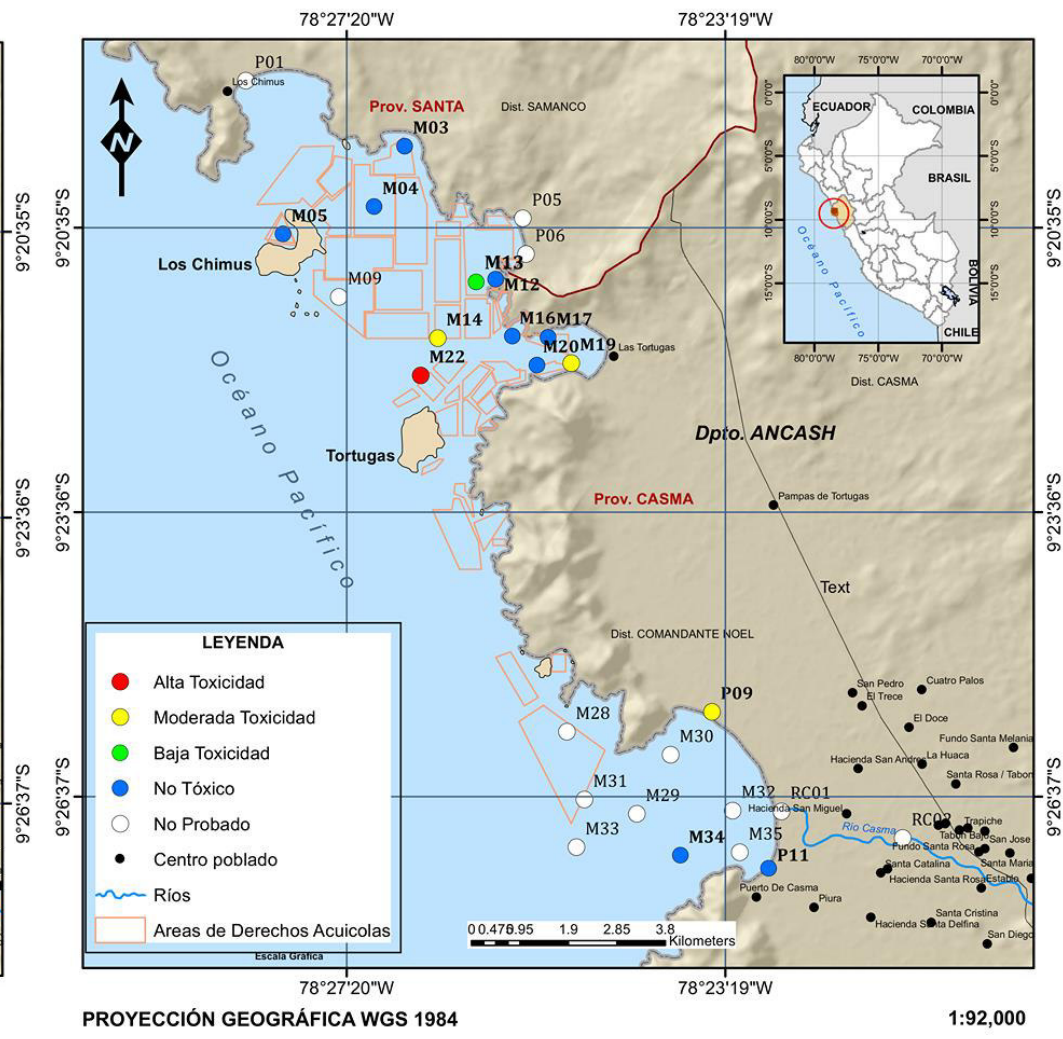


**Figura 15. Concentración letal media porcentual (CL<sub>50</sub>%) y nivel de toxicidad de sedimentos por estaciones de muestreo en las bahías Tortugas-Casma, agosto 2016.**





a)



b)

Figura 16. Toxicidad de sedimentos marinos de las bahías Tortugas-Casma, a) marzo, 2016; b) agosto, 2016.

Elaboración: Propia

## 6.2.2 Bahía de Paracas

### 6.2.2.1 Pruebas preliminares

Podemos observar los resultados de los análisis realizados a las pruebas preliminares para las estaciones provenientes de la bahía de Paracas del mes de abril en la tabla 10. De las 8 estaciones analizadas, las estaciones M19 y M23 no presentaron mortalidad alguna, a diferencia de las 6 estaciones restantes, de las cuales M03, M25 y M29 resultaron ser No peligrosas, ya que el valor de wilcoxon calculado resultó ser mayor al valor de la tabla ( $W = 11$ ,  $p > 0.05$ ). Mientras que las estaciones M20, M27 y M10A presentaron diferencia significativa ( $W_{\text{cal-M20}} = 10$ ,  $W_{\text{cal-M27}} = 10$  y  $W_{\text{cal-P10A}} = 6$ ,  $p < 0.05$ ), por lo tanto, se procede a realizar pruebas de multiconcentración para estas estaciones.

**Tabla 10. Resultados de las pruebas preliminares para las estaciones de muestro de la bahía Paracas, abril 2016.**

Estaciones de muestreo	Método del análisis estadístico	p valor	Resultado
M20	Wilcoxon	$p < 0.05$ , Dif. Sig.	Multiconcentración
M27			
P10A			
M03	Wilcoxon	$p > 0.05$ , No Dif. Sig.	No peligroso
M25			
M29	T de Student	$p > 0.05$ , No Dif. Sig.	No peligroso
M19	No mortalidad	-	No peligroso
M23			

Se observa los resultados obtenidos de los análisis realizados a las pruebas preliminares para las estaciones de la bahía de Paracas del mes de setiembre, en la tabla 11. De las 20 estaciones analizadas, las estaciones M-8, M-11, M-29 y P-8 presentaron diferencias significativas. Las estaciones M-8 y M-29 presentaron distribución normal, por tal motivo se les realizó una prueba de t de student, obteniendo un valor  $t_{\text{cal-M8}} = 0$  y  $t_{\text{cal-M8}} = 0.07$ , las cuales son menores al valor de la tabla, mientras que a las estaciones M-11

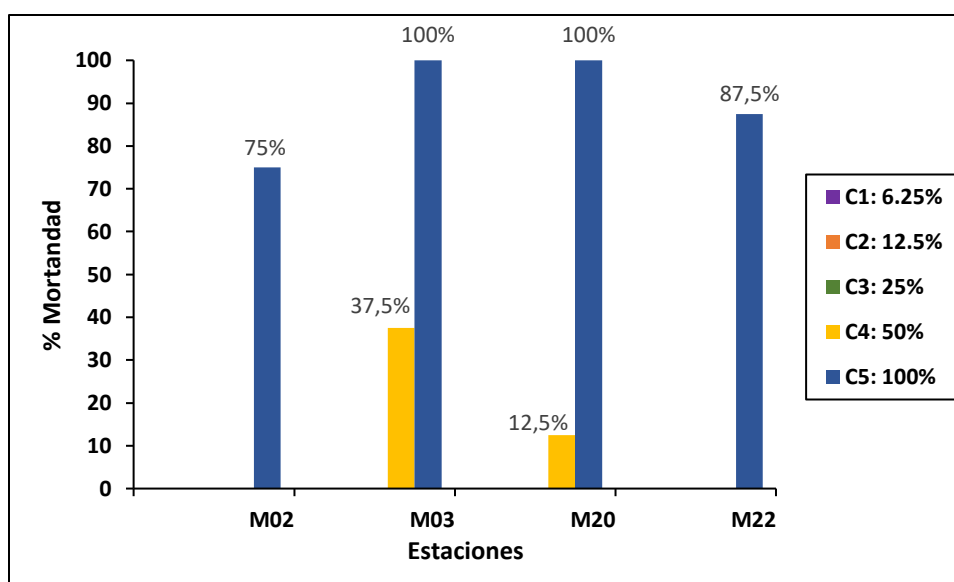
y P-8 se les realizó una prueba de wilcoxon ( $W_{\text{cal-M11}} = 10$  y  $W_{\text{cal-P8}} = 7$ ,  $p < 0.05$ ), resultando ser menor al valor de la tabla ( $W=11$ ), es decir, existe diferencia significativa entre la mortalidad de la concentración 100% con respecto al grupo control. Por lo tanto, se procede a realizar pruebas de multiconcentración. Contrario a esto, sucede con las estaciones restantes, las cuales resultaron ser No peligrosas.

**Tabla 11. Resultados de las pruebas preliminares para las estaciones de muestro de la bahía Paracas, setiembre 2016.**

Estaciones	Método del análisis estadístico	p-valor	Resultado
M08	T de student	$p < 0.05$ , Dif. Sig.	Multiconcentración
M29			
M11	Wilcoxon	$p < 0.05$ , Dif. Sig.	Multiconcentración
P08			
P04	Wilcoxon	$p > 0.05$ , No Dif. Sig.	No peligroso
M12	No mortalidad	-	No peligroso
M19			
M20			
M23			
M25			
M27			
P03			
P05			
P06			
P07			
P10			
P11			
P13			
P14			
P15			

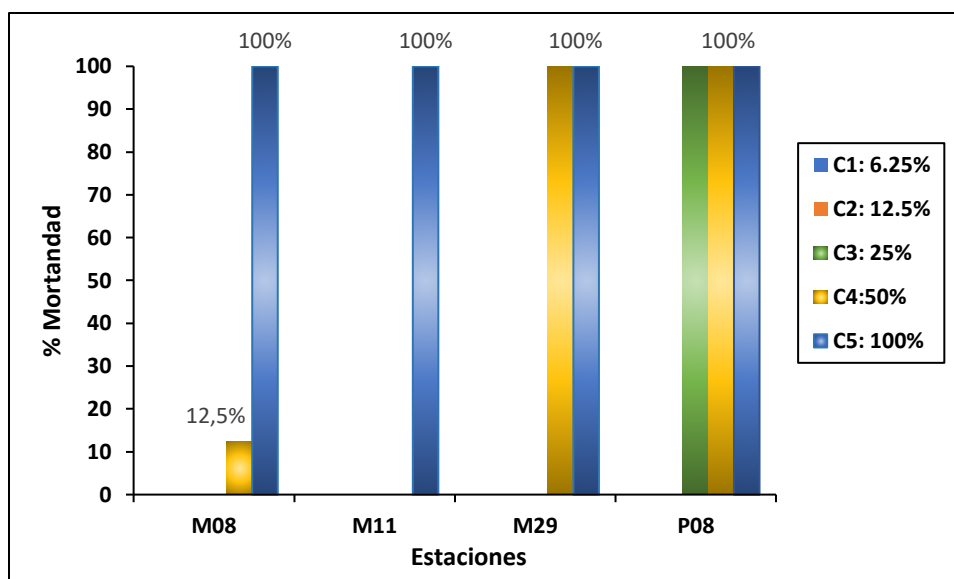
### 6.2.2.2 Pruebas de multiconcentración

Con respecto a la bahía Paracas para el mes de abril, se puede observar en la figura 17 que para las estaciones M20 y P10A, los organismos de *A. purpuratus* presentaron una mortalidad del 100% para la concentración sin diluir (100%), mientras que para la estación M27, presentaron una mortalidad de 87.5%. También se puede observar que a mayor concentración del elutriado de los sedimentos, la mortalidad se fue incrementando. El grupo control presentó una mortalidad de 0 % para todas las estaciones.



**Figura 17. Porcentaje de mortandad de *A. purpuratus* por tratamiento y por estaciones de muestreo en la bahía Paracas, abril 2016.**

Podemos observar en la figura 18 que para el mes de setiembre en la concentración sin diluir (100%), todas las estaciones presentaron una mortalidad del 100 % de individuos. Durante las pruebas de toxicidad, la mortalidad en el grupo control fue de 0 %, por lo consiguiente, las pruebas pueden ser consideradas válidas.



**Figura 18 . Porcentaje de mortandad de *A. purpuratus* por tratamiento y por estaciones de muestreo en la bahía Paracas, setiembre 2016.**

### 6.2.2.3 Análisis estadísticos para las pruebas de multiconcentración

A partir de los resultados que se muestran en la tabla 12 y 13, se pudo demostrar que, para las estaciones analizadas de los meses de abril y setiembre, las mortalidades medias para cada tratamiento presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ), con estos resultados se reafirma la validez de la prueba de toxicidad realizada para cada estación.

**Tabla 12. Valores de significancia de mortandad para las estaciones de la bahía Paracas, setiembre 2016.**

Estación de muestreo	Levene's	Shapiro Wilks	Kruskal Wallis
M20	0.0002	0.024	0.002
M27	0.0000008	0.001241	0.002
P10A	0.002	0.001241	0.001

**Tabla 13. Valores de significancia de mortandad para las estaciones analizadas de la bahía Paracas, abril 2016.**

<b>Estación de muestreo</b>	<b>Levene's</b>	<b>Shapiro Wilks</b>	<b>Kruskal Wallis</b>
<b>M08</b>	0.0002	0.001241	0.001
<b>M11</b>	-	-	0
<b>M19</b>	0.0002	0.001241	0.0001
<b>P08</b>	0.00060	0	0.004

#### **6.2.2.4 Parámetros fisicoquímicos**

Los parámetros fisicoquímicos registrados al inicio y comparados con los registrados al finalizar cada una de las pruebas de toxicidad definitivas tanto para las estaciones del mes de abril, así como para las del mes de setiembre, no mostraron variaciones significativas, por lo que se descarta que la mortalidad provocada durante los ensayos se haya debido a cambios bruscos de estos parámetros, ya sea durante las 96 horas de exposición (anexos 5, y 6).

#### **6.2.2.5 Análisis estadístico de los parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos**

Se analizaron los datos de la medición de los parámetros fisicoquímicos tomados al finalizar de cada una de las pruebas de toxicidad tanto para los datos de ambos meses, demostrando que no existe diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) de la temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg. L<sup>-1</sup>) y el pH (Tablas 14 y 15).

**Tabla 14. Valores de significancia para los parámetros fisicoquímicos al finalizar las pruebas de toxicidad de multiconcentración con sedimentos de las estaciones de muestreo en la bahía paracas, abril 2016.**

Estación	Pruebas estadísticas											
	Levene's			Shapiro Wilks			ANOVA			Kruskal Wallis		
	OD	pH	T	OD	pH	T	OD	pH	T	OD	pH	T
<b>M20</b>	0.05	0.13	0.16	0.001	0.001	0.001	0.36	0.52	-	-	-	0.11
<b>M27</b>	0.47	0.33	0.37	0.001	0.001	0.000	-	-	-	0.15	0.81	0.90
<b>P10A</b>	0.02	0.97	0.03	0.001	0.33	0.000	0.51	-	-	-	0.96	0.73

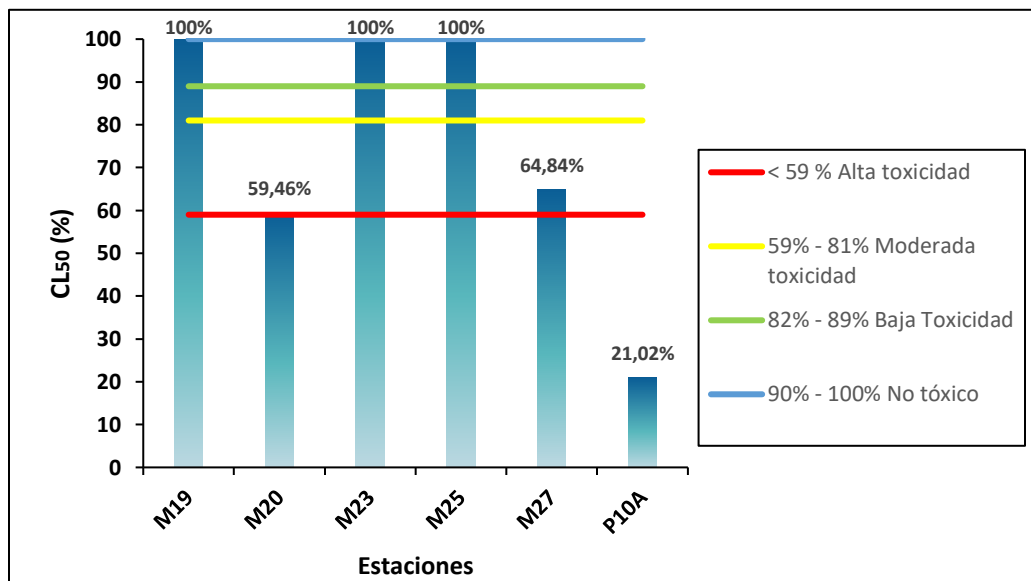
**Tabla 15. Valores de significancia para los parámetros fisicoquímicos al finalizar las pruebas de toxicidad de multiconcentración con sedimentos de las estaciones de muestreo en la bahía Paracas, setiembre 2016.**

Estación	Pruebas estadísticas											
	Levene's			Shapiro Wilks			ANOVA			Kruskal Wallis		
	OD	pH	T	OD	pH	T	OD	pH	T	OD	pH	T
<b>M08</b>	0.03	0.21	0.02	0.001	0.51	0.001	-	0.46	-	0.21	-	0.05
<b>M11</b>	0.47	0.33	0.37	0.001	0.001	0.000	-	-	-	0.22	0.47	0.16
<b>M29</b>	0.02	0.97	0.03	0.001	0.33	0.000	-	-	-	0.79	0.96	0.73
<b>P08</b>	0.01	0.27	0.02	0.002	0.01	0.000				0.19	0.26	0.48

#### 6.2.2.6 Toxicidad

El valor medio de la CL<sub>50</sub>% del elutriado del sedimento calculado para las estaciones analizadas de la bahía Paracas, se realizó mediante el método TSK.

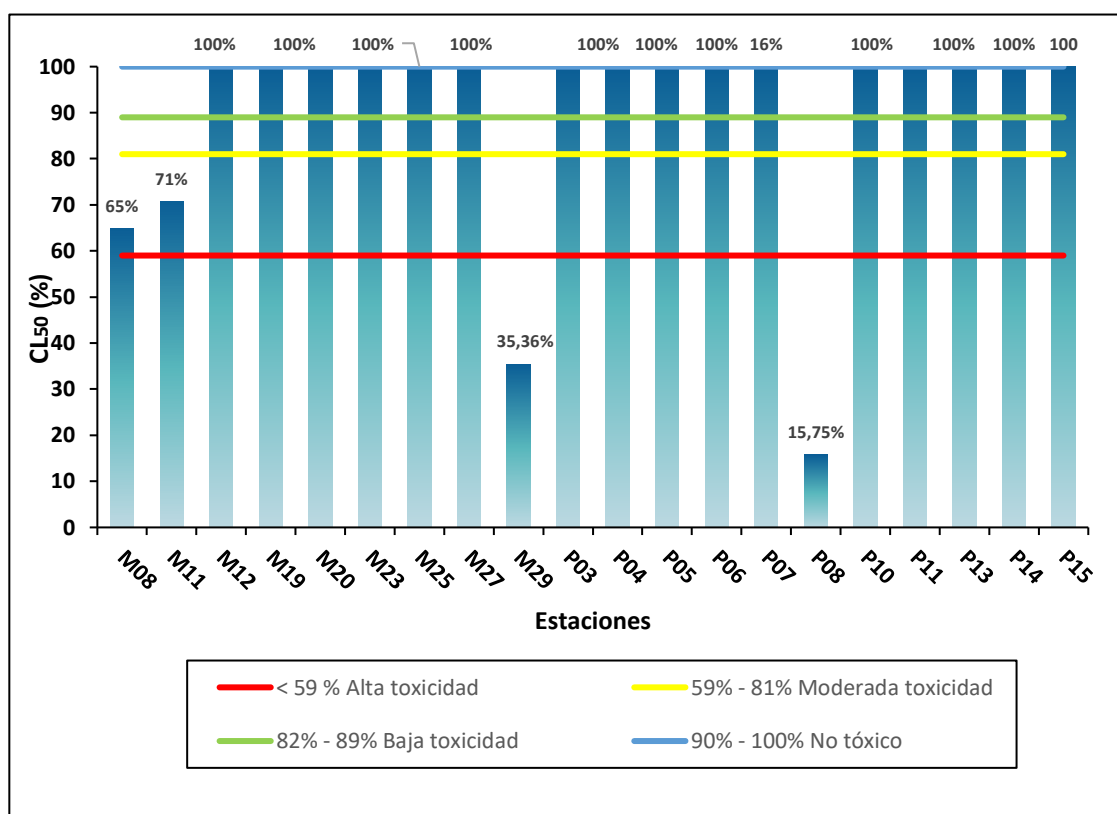
Siguiendo los valores propuestos por Bay *et al.* (2014) para estimar el nivel de toxicidad según la concentración letal media (CL<sub>50</sub>%) (ver Tabla 4), se tiene que, para el mes de abril, la estación P10A presentó una alta toxicidad con un valor de CL<sub>50</sub>% de 21.02 %, entretanto, las estaciones M20 y M27 resultaron ser moderadamente tóxicas, con valores de CL<sub>50</sub>% de 59.46% y 64.84% (figura 19 y 21a).



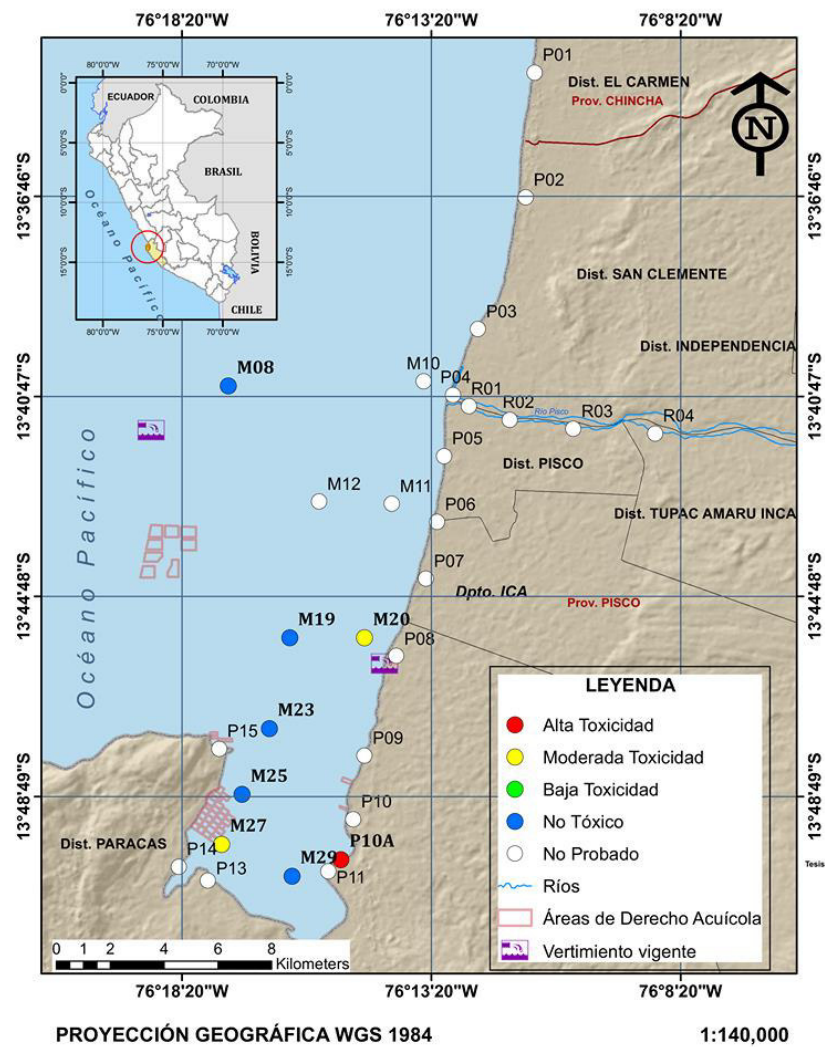
**Figura 19. Concentración letal media porcentual (CL<sub>50</sub>%) y nivel de toxicidad de sedimento por estaciones de muestreo en la Bahía Paracas, abril 2016.**

En las figuras 18 y 21b, se observa que, para el mes de setiembre, las estaciones M29 Y P08 presentaron una alta toxicidad con valores de CL<sub>50</sub>% de 35.36% y 15.75%, respectivamente. Por otro lado, la estación M08 con un CL<sub>50</sub>% de 64.84% y la estación M11 con un CL<sub>50</sub>% de 70.71%, son moderadamente tóxicos.

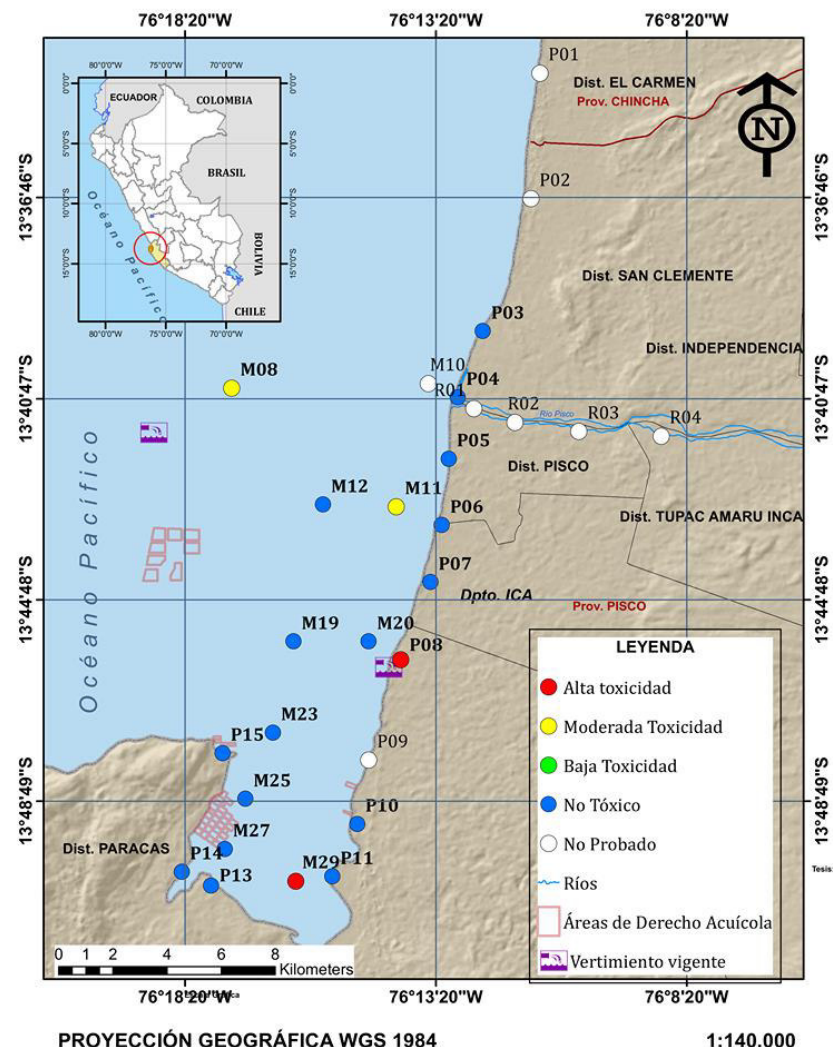




**Figura 20. Concentración letal media porcentual (CL<sub>50</sub>%) y nivel de toxicidad de sedimentos para las estaciones de muestreo en la bahía Paracas, setiembre 2016.**



a)



b)

Figura 21. Toxicidad de sedimentos marinos de la bahía Paracas, a) abril, 2016: b) setiembre, 2016.

Elaboración: Propia

## 7. DISCUSIÓN

Los resultados de mortalidad de *A. purpuratus* para las pruebas de toxicidad con sedimento mostraron una alta sensibilidad a la contaminación asociada a los sedimentos para ciertas estaciones evaluadas de ambas bahías. Por lo tanto, se puede considerar a *A. purpuratus* como organismo detector de ambientes perturbados, mediante el empleo de pruebas de toxicidad.

Los resultados obtenidos para las pruebas de toxicidad con sedimentos marinos muestran un gradiente de toxicidad para las zonas evaluadas. Según los criterios de clasificación propuestos por Bay *et al.* (2014) para estimar los niveles de toxicidad, para el caso de las bahías Tortugas-Casma en el mes de marzo indican que la estación M03, ubicada cerca a la playa Las Salinas, presentó alta toxicidad y las estaciones M02, ubicada en Los Chimus y M22, cercana a la Isla Tortugas, presentaron moderada toxicidad, a diferencia de las estaciones restantes, M05, M20, M31, M32, M33 y M34 que resultaron ser no tóxicas. Los resultados en el mes de agosto, la estación M22, cercana a la isla Tortugas, presentó alta toxicidad, las estaciones M14 y M19, ubicadas en la bahía Tortugas y la estación P09, ubicada en la playa Comandante Noel (Casma), presentaron moderada toxicidad y la estación M13, ubicada cerca a la playa Guaynuná, presentó baja toxicidad, por el contrario, las estaciones M03, M04, M05, M09, M12, M17, M20, M34 y P11 resultaron ser no tóxicas. Una de las causas que puede estar produciendo la toxicidad de dichos sedimentos puede ser las actividades de acuicultura, ya que las estaciones que presentaron alta toxicidad se encuentran dentro de concesiones donde se desarrollan los cultivos de *A. purpuratus* y otras especies. Según IMARPE (2007), se encontraron grandes concentraciones de materia orgánica en la bahía Tortugas, las cuales están asociadas a las actividades antropogénicas como la maricultura y la pesca artesanal. Asimismo, Paredes (2018) menciona que las actividades como la maricultura

y la pesca artesanal que incorpora grandes cantidades de materia orgánica, impactan negativamente a las bahías Tortugas-Casma, ya que influyen en el incremento de sulfuros, sólidos suspendidos totales y la reducción de los niveles de oxígeno en el sedimento, además afirma que para el año 2016, las actividades que mayor impacto ambiental generaron en las bahías de Tortugas-Casma son la agricultura, la población urbana, actividades portuarias, el transporte marítimo y la maricultura, las cuales pueden estar asociadas a la toxicidad encontrada en dicha zona de estudio.

Con respecto a la bahía de Paracas, para el mes de abril, los resultados indican que la estación P10A, presentó alta toxicidad y las estaciones M20, cercana a playa La Palmilla y M27, ubicada en la Reserva de Paracas, presentaron moderada toxicidad. Caso contrario sucede con las estaciones M19, M23, M25 y M29, que resultaron ser no tóxicas. Para el caso del mes de setiembre, los resultados de toxicidad mostraron que las estaciones M29, ubicada en la Reserva de Paracas y P8, ubicada entre las playas Lobería y playa Las Palmillas, presentaron alta toxicidad. Las estaciones M8 y M11 presentaron moderada toxicidad, mientras que las restantes resultaron ser no tóxicas. La alta toxicidad del sedimento de la estación P08 puede estar influenciada por la zona de vertimientos vigentes de residuos industriales de la empresa Pluspetrol al cual se encuentra cerca. Según Jacinto (2014), en la bahía Paracas y frente a Atenas y el sur de El Chaco, existe poca circulación de masas de agua, esto también puede estar asociado a la toxicidad presentada en dicha zona, ya que al existir poca circulación habrá una mayor concentración de contaminantes. Según el informe interno del AFIMC (2018), una de las principales actividades de mayor impacto ambiental en la bahía de Paracas para el año 2016, son las actividades turísticas, seguido de la pesca, actividades portuarias, maricultura y transporte marítimo, todas estas actividades pueden ser causas probables de la toxicidad encontrada en los sedimentos de esta zona de estudio.

Los resultados de las pruebas de toxicidad con los elutriados de sedimento de las estaciones provenientes de las bahías Tortugas-Casma y Paracas, mostraron cierta variabilidad temporal con respecto a los niveles de toxicidad debido probablemente a la variación de las condiciones oceanográficas, tales como las mareas o las corrientes generadas en esas áreas. Para integrar esta variabilidad y obtener conclusiones sólidas es necesario tener datos de una serie temporal larga y con una periodicidad intensa, que nos permita obtener resultados con significación estadística. A pesar de eso, las pruebas de toxicidad realizadas con juveniles de *A. purpuratus* muestran suficiente sensibilidad para detectar toxicidad directamente en muestras de sedimentos.

*A. purpuratus* ha sido utilizada en pruebas de toxicidad, expuesta a distintas sustancias tóxicas como metales pesados, entre esos estudios se encuentran los trabajos realizados por Sánchez y Tupayachi (1988), los cuales realizaron pruebas preliminares sobre toxicidad aguda del cobre en *A. purpuratus*, con concentraciones que variaron de 0,007 a 0,74 mg/L durante 96 horas, obteniendo un valor de 0,13 mg/L de concentración letal media (CL<sub>50</sub>). Asimismo, Troncoso *et al.* (2000), llevaron a cabo un estudio exponiendo a juveniles de *A. purpuratus* a distintas concentraciones de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O) durante 96 horas, obteniendo un CL<sub>50</sub> de 0.117 mg/L, llegando a comprobar la alta sensibilidad de este organismo, ellos mencionan que *A. purpuratus* puede usarse como una especie representativa de invertebrados en pruebas de toxicidad por la gran sensibilidad que presenta ante las sustancias tóxicas. Por otro lado, en la prueba de sensibilidad realizada en el presente estudio, se obtuvo un CL<sub>50</sub> de 0.39 mg/L, valor comparable con los obtenidos por Sánchez y Tupayachi (1988) y Troncoso *et al.* (2000), demostrando una adecuada sensibilidad a las diferentes concentraciones, lo que ratificó sus posibilidades potenciales de utilizarlas como indicador de mediciones de toxicidad aguda con otros compuestos tóxicos, entre los que figuran los sedimentos.

Se pueden alterar los resultados obtenidos de las pruebas de toxicidad por un mal control de los parámetros físicos como el oxígeno disuelto, la temperatura, así como de los parámetros químicos: el pH, dureza, amonio, amoniaco, nitritos y nitratos (Iannacone y Alvarino, 2002 y Malagrino y Almeida, 1987). En este estudio, se tomaron las mediciones de los parámetros fisicoquímicos antes, durante y al finalizar las pruebas, con el fin de determinar si estos influyen en la mortalidad de los individuos. Además, para evitar que las pruebas de toxicidad se vean alterados por la variación del pH del agua, se evitó alimentar a los organismos de *A. purpuratus* durante el tiempo de exposición al elutriado, debido a que las heces incrementarían la acidificación del agua. Luego de realizar los análisis estadísticos correspondientes, los valores de los parámetros fisicoquímicos se mantuvieron sin variaciones significativas al inicio y al final de las pruebas de toxicidad definitivas. De esta manera, se puede deducir que la mortalidad obtenida en las pruebas fue causada por la toxicidad proveniente de los sedimentos y que no hubo influencia de los parámetros fisicoquímicos.

Los análisis estadísticos realizados para las estaciones que presentaron mortalidad en ambas zonas de estudio, indican que las mortalidades medias presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos, lo que pone de manifiesto que las concentraciones empleadas producen mortalidades diferentes, las cuales van aumentando conforme aumenta la concentración a la que son expuestas los organismos durante las 96 horas de exposición, con estos resultados se reafirma la validez de las pruebas de toxicidad realizada para cada estación de ambas zonas de estudio.

Generalmente las pruebas de toxicidad que emplean matrices sólidas se realizan en una única concentración sin diluir (100%) de la muestra y los efectos observados son comparados con un control negativo (sedimento blanco o de referencia), de tal manera que la única conclusión que se obtiene es que la muestra es “tóxica” o “no tóxica”, sin haber una estimación cuantitativa de la toxicidad (Blaise y Ferard, 2005). En las pruebas

de toxicidad de multiconcentración realizadas en este estudio, se puede estimar la concentración letal media y el nivel de toxicidad para todas las estaciones provenientes de las bahías Tortugas-Casma y Paracas.

La USEPA (2002), recomienda el empleo de organismos autóctonos en las pruebas o bioensayos de toxicidad con sedimento marino, los cuales deben poseer características similares a los organismos utilizados en los protocolos estandarizados, es así que en este estudio se trabajó con *A. purpuratus*, ya que cumple con todos los criterios establecidos por la USEPA, y según los resultados obtenidos se demostró ser un organismo de alta sensibilidad a la sustancia de referencia como el sulfato de cobre y a los elutriados de sedimentos provenientes de las bahías Tortugas-Casma y Paracas.

La mortalidad en los controles negativos de los ensayos de toxicidad fue de 0% para todas las estaciones analizadas, así como para la prueba de sensibilidad, cumpliendo así, los criterios de aceptabilidad para pruebas de toxicidad recomendados por la USEPA (2000).

Se desconoce la situación ambiental actual de las zonas de aprovechamiento de acuicultura en el país, siendo las bahías Tortugas-Casma y Paracas, zonas potenciales para el desarrollo de esta actividad. Este estudio nos permitirá brindar información para una adecuada toma de decisiones dirigidas a mejorar la condición del ecosistema y asegurar la sostenibilidad de la acuicultura realizada en dichas zonas.

Los cultivos que se llevan a cabo en las zonas de estudio pueden estar influenciando en la toxicidad de sedimentos marinos para ambas bahías, a su vez, esta toxicidad puede afectar a los propios organismos cultivados. El exceso de materia orgánica puede causar déficits de oxígeno disuelto en el sedimento, ocasionando cambios en las condiciones químicas, las cuales favorecen a la liberación de nutrientes como fósforo y nitrógeno a la columna de agua, al existir déficits de oxígeno se dan las condiciones anaerobias para las bacterias sulfato-reductoras y metanogénicas en el

sedimento, ocasionando la producción de dióxido de carbono, gas sulfhídrico y metano, los cuales pueden causar mortalidades en los organismos cultivados debido a su toxicidad (Vergara *et al.*, 2005). Por tal motivo, la toxicidad encontrada en el sedimento en las zonas de estudio puede causar un efecto negativo en los cultivos de concha de abanico.

En ambas zonas de estudio, como ya se mencionó en párrafos anteriores, la toxicidad de los sedimentos marinos observada en el presente estudio puede estar influenciado por diversas actividades. Para determinar exactamente cuál es la fuente de contaminación es recomendable realizar un estudio multidisciplinario en el que se incluyan análisis químicos, microbiológicos, entre otros y relacionarlos con la toxicidad de los sedimentos marinos encontrados en el presente estudio.

En base a la información obtenida en el presente, podemos afirmar que existe toxicidad de sedimentos marinos de las bahías Tortugas-Casma y Paracas sobre juveniles de *A. purpuratus*, por lo tanto, es importante tomar medidas preventivas con el fin de mejorar las condiciones del ecosistema y a su vez, asegurar la sostenibilidad de la maricultura y la pesca artesanal, en ambas zonas de estudio.

## **8. CONCLUSIONES**

- En las bahías Tortugas-Casma y Paracas existen zonas en las cuales los sedimentos marinos resultan tóxicos para los juveniles de *A. purpuratus*.
- Los sedimentos marinos de las estaciones evaluadas presentaron distintos niveles de toxicidad sobre los juveniles de *A. purpuratus*, los cuales mostraron nula, baja, moderada y alta toxicidad en las bahías de Tortugas-Casma, mientras que en la bahía de Paracas se observó nula, moderada y alta toxicidad.



- Se demostró la sensibilidad de *A. purpuratus* ante el sulfato de cobre pentahidratado, con un CL<sub>50</sub> de 0.39 mg/L, para pruebas ecotoxicológicas y control de calidad del organismo “biocentinela”.
- De acuerdo a la sensibilidad observada en el presente estudio de *A. purpuratus* para discriminar diferentes niveles de toxicidad con sedimentos marinos, esta especie cumple con los criterios de la USEPA, por lo que podría emplearse como organismo prueba para evaluar la toxicidad de los sedimentos marinos.

## 9. RECOMENDACIONES

- Es importante continuar con estudios toxicológicos de los sedimentos marinos en las bahías Tortugas-Casma y Paracas, en un espacio temporal más amplio, así como a lo largo de todo el litoral peruano ya que, el sedimento es un componente dinámico que funciona como hábitats de distintos organismos marinos, pero también actúa como una fuente de contaminación a través de la liberación de compuestos en el agua.
- *A. purpuratus* puede ser empleado como organismo detector de ambientes perturbados (biocentinela), mediante pruebas de ecotoxicidad.
- Dado el interés y la conveniencia de contar con organismos autóctonos para el diagnóstico ambiental de los impactos de la contaminación, los resultados obtenidos en este estudio, contribuyen a la generación de una línea de base para incorporar a los juveniles de *A. purpuratus* como organismo prueba de monitoreo de ambientes acuáticos marinos contaminados.
- Se recomienda realizar pruebas de toxicidad con otras especies de distintos niveles tróficos, ya que, pueden ayudar a ampliar el espectro ecotoxicológico y a su vez validar los resultados obtenidos a partir de los sedimentos utilizados

en este estudio, debido a que no existe más bibliografía de pruebas ecotoxicológicas con estos sedimentos.

- Es recomendable realizar bioensayos de toxicidad crónicos y de esta manera observar los efectos subletales que pueden ocasionar los contaminantes que se encuentran en los sedimentos en un mayor tiempo de exposición.
- Es recomendable realizar un estudio multidisciplinario en el que se incluyan análisis químicos, microbiológicos, entre otros y relacionarlos con la toxicidad de los sedimentos marinos encontrados en el presente estudio, con el fin de encontrar la fuente exacta de contaminación.
- Es importante tomar medidas preventivas para las zonas que resultaron tóxicas en las bahías Tortugas-Casma y Paracas con el fin de mejorar las condiciones del ecosistema y a su vez, asegurar la sostenibilidad de la maricultura y la pesca artesanal.

## **10. BIBLIOGRAFÍA**

- Área Funcional de Investigaciones Marino-Costeras (AFIMC) (2018). Determinación del estado presión y respuesta en Paracas (bahía Paracas, Pisco, río Pisco e islas Ballestas), 2016. Instituto del Mar del Perú (no publicado).
- Almeida, A. (2006). Fases e impactos de la actividad petrolera. En: Manuales de Monitoreo Ambiental Comunitario. Acción Ecológica. Quito.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WPCF (Water Pollution Control Federation). (1995). Standard methods for examination of water and wastewater. 19th Ed. American Health Association. Washington D.C.

- Anderson B, Nicely P, Gilbert K, Kosaka R, Hunt J, Phillips B. (2004). Overview of Freshwater and Marine Toxicity Tests: A Technical Tool for Ecological Risk Assessment. California Environmental Protection Agency Office of Environmental Health Hazard Assessment Reproductive and Cancer Hazard Assessment Section Ecotoxicology Unit. [www.oehha.ca.gov/ecotox/documents](http://www.oehha.ca.gov/ecotox/documents).
- Argüelles, J.; Aguilar, S., Alfaro, S.; Berrú, P.; De la Cruz, J.; Donayre, S.; Hostia, P.; Ramírez, A.; Taipe, A.; Tejada, A.; Sanjinez, M.; Torres, E.; Ordinola, E.; Yamashiro, C. (2011). Protocolo para la evaluación de concha de abanico *Argopecten purpuratus* (LAMARCK, 1819).
- ASTM. (American Society for Testing and Materials). (1994). Standard guide for designing biological tests with sediments. ASTM E 1521-94, Philadelphia.
- Balducci, N., & Mendo, J. (2011). Variación circadiana de la tasa de respiración y filtración de *Argopecten purpuratus* en la Bahía de Sechura, Piura, Perú. Libro de Resúmenes. Seminario Bases científicas y tecnológicas para incrementar la productividad del cultivo de concha de abanico en áreas de repoblamiento en la Bahía de Sechura, 48-53.
- Baltazar, P. M., y Palacios, J. (2015). La acuicultura en el Perú: producción, comercialización, exportación y potencialidades. Foro Iberoam. Rec. Mar. Acui. VII (2015): 293-305.
- Bay, S. M., Greenstein, D. J., Ranasinghe, J. A., Diehl, D. W., Fetscher, A. E. (2014). Sediment Quality Assessment Technical Support Manual (No. 777). Technical Report.
- Bermudez Corcuera, P. I., & Aquino Bravo, H. (2004). Manual de cultivo suspendido de concha de abanico. AECI/PADESPA - FONDEPES, Lima, Perú.

- Blaise, C. y Férard, J. (2005). Small-scale Freshwater Toxicity Investigations, Vol. 2. Springer.
- Brand, A. R. (2016). Scallop Ecology: Distributions and Behaviour. In Developments in Aquaculture and Fisheries Science (Vol. 40, pp. 469-533). Elsevier.
- Bryan, G.W. y Langston, W.J. 1992. Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: a review. Environ. Poll. 76: 89-131.
- Burton, G. A. y Landrum, P. F. (2003). Toxicity of sediments. Encyclopedia of Sediments and Sediementary Rocks. pp. 748- 751.
- Cabrera, C. (2002). Estudio de la contaminación de las aguas costeras en la Bahía de Chancay: Propuesta de Recuperación. (Tesis para optar el grado de Maestría en Geografía con mención en Ordenamiento y Gestión Ambiental. Escuela de Postgrado. Facultad de Geología, Minas, Metalurgia y Ciencias Geográficas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima–Perú. 177pp).
- Carballo, O., Arencibia G., Concepción J. e Isla, M. (2010). Los bioensayos de toxicidad en sedimentos marinos. Revista de Toxicología en línea. p. 33-69. <http://hdl.handle.net/1834/3670>. La Habana-Cuba.
- Casado-Martínez M. C., Buceta J. L., Forja J. M., DelValls T. A. (2006a). Ejercicio interlaboratorio de bioensayos marinos para la evaluación de la calidad ambiental de sedimentos costeros. I. Descripción del ejercicio y calidad de los sedimentos. Ciencias marinas, 32:121–8.
- Casado-Martínez M. C., Campisi T., Días A., Lo Re R., Obispo R., Postman J. F., Riba I., Sneeke A. C., Buceta J. L., DelValls T. A. (2006b) Interlaboratory assessment of marine bioassays to evaluate the environmental quality of coastal

sediments in Spain. II. Bioluminescence inhibition test for rapid sediment toxicity assessment. *Ciencias Marinas*; 32(1b): 129–38.

- Casado-Martínez, M. C., Blasco, J., González-Castromil, M. A., Riba, I., DelValls, T. A. (2006c). Ejercicio interlaboratorio de bioensayos para la evaluación de la calidad ambiental de sedimentos costeros. V. Ensayo de toxicidad sobre sedimento con juveniles del bivalvo *Ruditapes philippinarum*. *Ciencias marinas*, 32(1b), 159-166.
- Castillo, G. (2004). Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones (No. 615.9 C3).
- Cesar, A. (2003). Análisis ecotoxicológico integrado de la contaminación marina en los sedimentos de la costa de Murcia: el caso de Portmán, Sudeste-España (Doctoral dissertation, Universidad de Murcia).
- Chapman, P. M. (1995). Bioassay testing for Australia as part of water quality assessment programmes. *Austral Ecology*, 20(1), 7-19.
- Chapman, P. M. (1989). Current approaches to developing sediment quality criteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8(7), 589-599.
- Comisión Permanente del Pacífico Sur (CPPS). (2000). Estado del medio ambiente marino y costero del Pacífico Sudeste. Plan de acción para la protección del medio marino y áreas costeras del Pacífico sudeste (Colombia, Chile, Ecuador, Panamá y Perú).
- Del Valls, T. A., M Forja, J., Gómez Parra, A. (1998). El uso del análisis multivariante en la unión de datos de toxicidad y contaminación para establecer guías de calidad de sedimento: un ejemplo en la bahía de Cádiz (España). *Ciencias Marinas*, 24(2), 127 – 154.

- Díaz Báez, M., Y. Pica Granados y M. C. Sobrero. 2008. Aseguramiento y control de calidad de los ensayos de toxicidad. En: Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo: La experiencia en México. Patricia Ramírez Romero y Ania Mendoza Cantú (Compiladoras.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Instituto Nacional de Ecología. México D. F. p: 347 – 360.
- EPA (Environmental Protection Agency). (1990). Guidance Document on Control of Toxicity Test Precision Using Reference Toxicants. Environment Canada.
- Giusto, A. (2015). Efectos de la Contaminación por metales pesados sobre Anfipodos de agua dulce y su aplicación en estudios de toxicidad de sedimentos (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires).
- Helm, M. M., Bourne, N. (2006). Cultivo de bivalvos en criadero. Un manual práctico. FAO. Documento Técnico de Pesca 471.
- Iannacone, J. y L. Alvaríño (2002). Efecto del detergente doméstico Alquilaryl sulfonato de sodio lineal (LAS) sobre la mortalidad de tres caracoles dulceacuícolas en el Perú. Ecología aplicada, 1(1): 81-87.
- Ibárcena, L. (2011). Estudio de la contaminación por metales ecotóxicos en sedimentos en la bahía de Ite, Tacna. Ciencia & Desarrollo, (13).
- IMARPE (Instituto del Mar del Perú) (2008). Informe de Evaluación del Plan Operativo Institucional Anual 2008. Recuperado de [http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe\\_epoa08\\_eval\\_anual08.pdf](http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/informes/imarpe_epoa08_eval_anual08.pdf)

- IMARPE (Instituto del Mar del Perú) (2007). Estudio de línea base en el ámbito marino de la bahía Tortugas. Recuperado de <http://www2.produce.gob.pe/RepositorioAPS/3/jer/ACUISUBMENU4/lbase-tortuga.pdf>
- Jacinto T., & Elena, M. (2014). Propuesta de un sistema de indicadores ambientales y socio económicos en la zona marino costera de Pisco-Paracas.
- Lacma, J., Iannacone, J., & Vera, G. (2007). Toxicidad del cromo en sedimento usando *Donax obesulus* Reeve 1854 (Pelecypoda: Donacidae). *Ecología Aplicada*, 6(1-2), 93-99.
- Long, E. R., y Chapman, P. M. (1985). A sediment quality triad: measures of sediment contamination, toxicity and infaunal community composition in Puget Sound. *Marine Pollution Bulletin*, 16(10), 405-415.
- Mackay, D. (2001). *Multimedia Environmental Models: The Fugacity Approach*, 2nd ed., CRC Press/Lewis Publishers, Boca Raton, FL, p. 272.
- Malagrino, W.; Almeida, A. (1987). Estudo comparativo de ação tóxica de um detergente biodegradável sobre *Poecilia reticulata* e *Poecilia vivípara* (Pises: Poecilidade). *Revista DAE*. 1987. Vol.148, nº 47, p. 86-91.
- Mendo J, Wolff M, Mendo T, Ysla L. (2016). Scallop Fishery and Culture in Peru. In: Shumway S, Parsons J, editors. *Scallops: Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries*. Third Edit. p. 1089–109.
- Mendo, J., Wolff, M., Carbajal, W., Gonzáles, I., & Badjeck, M. (2008). Manejo y explotación de los principales bancos naturales de concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en la costa peruana. *FAO Actas de Pesca y Acuicultura*.

- Mendo, J., & Wolff, M. (2002). Pesquería y manejo de la concha de abanico (*Argopecten purpuratus*) en la Bahía Independencia. Memorias de la I Jornada Científica Bases ecológicas y socioeconómicas para el manejo de los recursos vivos de la reserva nacional de Paracas, 188-194.
- MINCETUR (Ministerio de Comercio Exterior y Turismo) (2015). Perfil del mercado y competitividad exportadora de la concha de abanico. Recuperado de [https://www.mincetur.gob.pe/wpcontent/uploads/documentos/comercio\\_exterior/plan\\_exportador/publicaciones/](https://www.mincetur.gob.pe/wpcontent/uploads/documentos/comercio_exterior/plan_exportador/publicaciones/).
- Navarro R.; Sturia, S.; Cordero O. y Avendaño M. 1991. Aquaculture and fisheries-Chile, pp. 1001- 1016. En, S. shumway (ed.). Scallops biology and aquaculture developments aquaculture And fishieries sciencia, 21. 1095p.
- OECD (Organization for Economic Co-operation and Development). 1993. Guidelines for the testing of chemicals. Vol. 1 y 2, Paris, Francia.
- Paredes, C. (2018). Determinación de la presión, estado y respuesta ambiental de las bahías Tortugas-Casma durante el año 2016.
- Peluso, M. L. (2011). Evaluación de efectos biológicos y biodisponibilidad de contaminantes en sedimentos del Río de la Plata y afluentes (Doctoral dissertation, Facultad de Ciencias Exactas).
- Pesch, G., Stewart, N., Pesch, C. (1979). Copper toxicity to the bay scallop (*Argopecten irradians*). Bulletin of environmental contamination and toxicology, 23(1), 759-765.
- PRODUCE (Ministerio de la Producción) (2016). Anuario estadístico pesquero y acuícola 2016. Recuperado de <https://www.produce.gob.pe/documentos/estadisticas/anuarios/anuario-estadistico-pesca-2016.pdf>



- Rainbow, P. S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-12), 183-192.
- Rodríguez-Satizábal, S. A., Castellanos, C., Contreras, G., Franco, A., & Serrano, M. (2015). Efectos letales y subletales en juveniles de *Argopecten nucleus* expuestos a lodos de perforación. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR*, 44(2), 303-326.
- Rudolph, A., J. Moscoso, G. Aguirre y R. Ahumada. (2005). Calidad de los sedimentos en el mar interior de Chiloé.
- Sánchez, G., Blas, L., y Chau, G. (2010). Informe nacional sobre el estado del ambiente marino del Perú. Convenio IMARPE-CPPS. Programa Conpacse III. Lima-Perú.
- Sánchez Rivas, G., y Vera Diego, G. (2001). Manual introductorio de ecotoxicología acuática. Instituto del Mar del Perú, 161:1-40.
- Sánchez, G., Córdova, J., Ledesma, J. (1997). Informe ambiental en la zona industrial pesquera de la bahía de Paracas, Pisco, Perú. 25 al 27 de abril 1997. Instituto del Mar del Perú.
- Sánchez, G. y Tupayachi, M. (1988). Pruebas preliminares sobre toxicidad aguda del cobre en la Concha de Abanico (*Argopecten purpuratus*). Instituto del Mar del Perú.
- Sobrino-Figueroa, A. S., Cáceres-Martínez, C., Botello, A. V., Nunez-Nogueira, G. (2007). Effect of cadmium, chromium, lead and metal mixtures on survival and growth of juveniles of the scallop *Argopecten ventricosus* (Sowerby II, 1842). *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 42(10), 1443-1447.

- Troncoso, L., Galleguillos, R., Larrain, A. (2000). Effects of copper on the fitness of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Mollusca: Bivalvia). In Marine Genetics (pp. 185-189). Springer Netherlands.
- Uribe, E. y J. Blanco. (2001). Capacidad de los sistemas acuáticos para el sostenimiento de los cultivos de pectínidos: El caso de *Argopecten purpuratus* en la Bahía Tongoy, Chile. A. N. Maeda-Martínez (ed.). Los Moluscos Pectínidos de Iberoamérica: Ciencia y Acuicultura 12: 233-248.
- USEPA (Environmental Protection Agency). (2002). Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms. Fifth Edition. EPA-821-R-02-012. Office of Water, Washington, DC.
- USEPA (Environmental Protection Agency). (2001). Methods for collection, storage, and manipulation of sediments for chemical and toxicological analyses. EPA-823-B-01-002 (October, 2001 draft).
- USEPA (Environmental Protection Agency). (1999). Methods for collection, storage, and manipulation of sediments for chemical and toxicological analyses. (May 14, 1999 draft).
- USEPA (Environmental Protection Agency). (1998). Contaminated sediment management strategy. EPA 823-R-98-001. Office of Water, Washington, DC.
- USEPA (Environmental Protection Agency). (1994). Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates. First Edition. EPA/600/R-94/ 024, Duluth, MN.
- USEPA (Environmental Protection Agency). (1977) Ecological Evaluation of Proposed Discharge of Dredged Material into Ocean Waters: Implementation Manual for Section 103 of Public Law 92-532. Environmental Effects Laboratory, US Army Water-ways Experiment Station, Vicksburg, Mississippi.

- Vera, G. y Pinto, E. (2003). Efectos ecotoxicológicos del metal pesado Cadmio usando *Argopecten purpuratus* “concha de abanico”. Instituto del Mar del Perú.
- Vergara Martín, J. M., Haroun, R., & González-Henríquez, N. (2005). Evaluación de impacto ambiental de acuicultura en jaulas en Canarias.
- Verrengia Guerrero, N. V., Taylor, M. G., Wider, E. A., & Simkiss, K. (2003). Influence of particle characteristics and organic matter content on the bioavailability and bioaccumulation of pyrene by clams. *Environmental Pollution*, 121(1), 115-122.
- Zapata, M., Lang, M., Riso, R., Moraga, D., Riquelme, C. (2012). Trace metal and biomarker levels in tissues of *Argopecten purpuratus* in the north of Chile, and the potential use of this species as a bioindicator of metallic stress. *Aquatic living resources*, 25(3), 259-267.
- Zuykov, M., Pelletier, E., Harper, D. A. (2013). Bivalve mollusks in metal pollution studies: from bioaccumulation to biomonitoring. *Chemosphere*, 93(2), 201-208.

## ANEXOS

### Anexo 1. Estaciones de muestreo para la colecta de sedimento de la bahía Tortugas-Casma.

Estación	Zona	Latitud sur	Longitud oeste	Punto de referencia
M - 02	Mar	09° 19' 51,5"	78° 27' 48"	Nepeña
M - 03	Mar	09° 19' 43,1"	78° 26' 43"	Las Salinas
M - 05	Mar	09° 20' 38,7"	78° 28' 00"	Isla Los Chimus
M - 09	Mar	09° 21' 19,0"	78° 27' 25"	Isla Los Chimus
M - 12	Mar	09° 21' 07,6"	78° 25' 45,2"	Guaynuma
M - 13	Mar	09° 21' 09,5"	78° 15' 57,7"	Tortugas
M - 14	Mar	09° 21' 45,2"	78° 26' 22,1"	Tortugas
M - 16	Mar	09° 21' 44,1"	78° 25' 34,7"	Tortugas
M - 17	Mar	09° 21' 44,8"	78° 25' 11,9"	Tortugas
M - 19	Mar	09° 22' 01,1"	78° 24' 57,3"	Tortugas
M - 20	Mar	09° 22' 02,39"	78° 25' 19"	Tortugas
M - 22	Mar	09° 22' 09,01"	78° 26' 33"	Isla Tortugas
M - 28	Mar	09° 25' 55,6"	78° 25' 0,2"	Bernardino
M - 29	Mar	09° 26' 47,8"	78° 24' 15,7"	Casma
M - 30	Mar	09° 26' 10,2"	78° 23' 54,3"	Casma
M - 31	Mar	09° 26' 38,7"	78° 24' 49"	Casma
M - 32	Mar	09° 26' 45,6"	78° 23' 15"	Casma
M - 33	Mar	09° 27' 08,90"	78° 24' 54"	Casma
M - 34	Mar	09° 27' 14,0"	78° 23' 48"	Casma
M - 35	Mar	09° 27' 12,2"	78° 23' 10,4"	Casma
P - 01	Playa	09° 19' 01,67"	78° 28' 24"	Desembocadura del río Nepeña
P - 05	Playa	09° 20' 29,2"	78° 25' 28"	Guaynuma
P - 06	Playa	09° 20' 51,8"	78° 25' 26"	Guaynuma
P - 09	Playa	09° 25' 42,8"	78° 23' 28"	Comandante Noel
P - 11	Playa	09° 27' 22,2"	78° 22' 52"	Puerto Casma

**Anexo 2 . Estaciones de muestreo para la colecta de sedimento de la  
bahía Paracas.**

<b>Estación</b>	<b>Zona</b>	<b>Latitud sur</b>	<b>Longitud oeste</b>	<b>Punto de referencia</b>
M - 08	Mar	13° 40' 34,304"	76° 17' 24,645"	Río Pisco
M - 10	Mar	13° 40' 28,841"	76° 13' 29,725"	Río Pisco
M - 11	Mar	13° 42' 56,349"	76° 14' 7,968"	Paracas
M - 12	Mar	13° 42' 53,617"	76° 15' 35,380"	Paracas
M - 19	Mar	13° 45' 37,515"	76° 16' 10,891"	Paracas
M - 20	Mar	13° 45' 37,515"	76° 14' 40,748"	Paracas
M - 23	Mar	13° 47' 26,780"	76° 16' 35,476"	Paracas
M - 25	Mar	13° 48' 45,997"	76° 17' 8,255"	Paracas
M - 27	Mar	13° 49' 46,093"	76° 17' 32,840"	Reserva de Paracas
M - 29	Mar	13° 50' 24,335"	76° 16' 8,160"	Reserva de Paracas
P - 01	Playa	13° 34' 17,340"	76° 11' 15,876"	Chincha
P - 02	Playa	13° 36' 47,579"	76° 11' 26,802"	Pisco
P - 03	Playa	13° 39' 26,014"	76° 12' 24,166"	Pisco
P - 04	Playa	13° 40' 45,231"	76° 12' 54,214"	Río Pisco
P - 05	Playa	13° 41' 58,985"	76° 13' 5,141"	Paracas
P - 06	Playa	13° 43' 18,202"	76° 13' 13,336"	Paracas
P - 07	Playa	13° 44' 26,492"	76° 13' 26,994"	Paracas
P - 08	Playa	13° 45' 59,368"	76° 14' 2,505"	Paracas
P - 09	Playa	13° 47' 59,559"	76° 14' 40,748"	Paracas
P - 10	Playa	13° 49' 16,045"	76° 14' 54,406"	Paracas
P - 13	Playa	13° 50' 29,799"	76° 17' 49,230"	Paracas
P - 14	Playa	13° 50' 13,3"	76° 18' 24,3"	Paracas
P - 15	Playa	13° 47' 51,364"	76° 17' 35,572"	Paracas

**Anexo 3. Valores de los parámetros fisicoquímicos para las pruebas de toxicidad de  
las estaciones de la bahía Tortugas-Casma, marzo 2016.**

Estación	Tiempo	OD (mg/L)	T (°C)	pH	Cond. (mS/cm)	S‰
<b>M22</b>	0	7.94 ± 1.57	19.97 ± 0.19	7.86 ± 0.28	53.08 ± 0.44	34.77 ± 0.35
	96 h	7.62 ± 1.55	19.11 ± 0.18	7.77 ± 0.13	54.59 ± 2.23	35.81 ± 1.62
<b>M03</b>	0	8.44 ± 1.08	18.23 ± 1.12	7.96 ± 0.07	53.77 ± 0.08	35.17 ± 0.05
	96 h	7.99 ± 1.13	19.53 ± 0.29	7.97 ± 0.16	54.34 ± 0.33	35.65 ± 0.24
<b>M20</b>	0	9.22 ± 0.12	18.13 ± 1.17	7.92 ± 0.13	53.87 ± 0.2	35.25 ± 0.05
	96 h	8.1 ± 1.15	19.82 ± 0.18	7.84 ± 0.08	53.83 ± 0.27	35.3 ± 0.19
<b>M22</b>	0	8.02 ± 0.96	17.71 ± 2.05	7.72 ± 0.26	53.87 ± 0.18	35.18 ± 0.04
	96 h	8.07 ± 0.58	19.6 ± 0.17	7.9 ± 0.11	54.2 ± 0.87	35.55 ± 0.66

**Anexo 4. Valores de los parámetros fisicoquímicos para las pruebas de toxicidad de  
las estaciones de la bahía Tortugas-Casma, agosto 2016.**

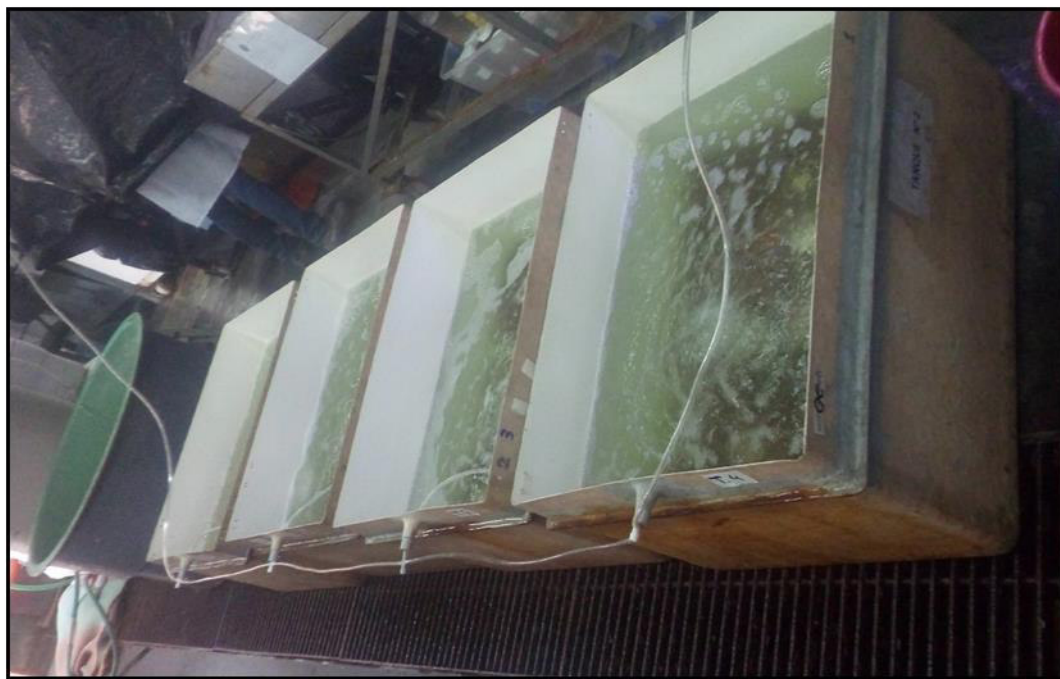
Estación	Tiempo	OD (mg/L)	T (°C)	pH	Cond. (mS/cm)	S‰
<b>M03</b>	0	7.72 ± 0.17	22.78 ± 1.3	7.76 ± 0.1	53.33 ± 0.08	35.1 ± 0
	96 h	8.8 ± 0.15	21.99 ± 0.16	8.14 ± 0.13	54.29 ± 0.55	35.76 ± 0.4
<b>M13</b>	0	8.51 ± 0.29	18.82 ± 0.17	8.01 ± 0.1	53.82 ± 0.04	35.22 ± 0.04
	96 h	6.74 ± 0.54	19.23 ± 0.16	7.74 ± 0.14	55.53 ± 1.46	36.49 ± 1.08
<b>M14</b>	0	8.16 ± 0.45	20.95 ± 0.26	8.03 ± 0.25	53.2 ± 0.14	34.87 ± 0.1
	96 h	8.2 ± 1.66	22.8 ± 0.18	8.18 ± 0.12	53.96 ± 0.41	35.6 ± 0.31
<b>M22</b>	0	7.99 ± 0.82	21.53 ± 0.16	8.43 ± 0.05	52.93 ± 0.49	34.73 ± 0.34
	96 h	8.72 ± 0.12	21.89 ± 0.05	8.16 ± 0.19	54.13 ± 0.58	35.6 ± 0.43
<b>P09</b>	0	9.39 ± 0.1	18.64 ± 0.2	8.12 ± 0.03	53.78 ± 0.08	35.18 ± 0.08
	96 h	7.06 ± 0.25	19.11 ± 0.14	7.85 ± 0.06	53.05 ± 5.65	35.88 ± 0.41

**Anexo 5. Valores de los parámetros fisicoquímicos para las pruebas de toxicidad de las estaciones de la bahía Paracas, abril 2016.**

Estación	Tiempo	OD (mg/L)	T (°C)	pH	Cond. (mS/cm)	S‰
<b>M20</b>	0	8.51 ± 0.29	18.82 ± 0.17	8.01 ± 0.1	53.82 ± 0.04	35.22 ± 0.04
	96 h	6.74 ± 0.54	19.23 ± 0.16	7.74 ± 0.14	55.53 ± 1.46	36.49 ± 1.08
<b>M27</b>	0	8.8 ± 0.39	18.9 ± 0.63	8.06 ± 0.09	53.65 ± 0.34	35.2 ± 0.22
	96 h	7.89 ± 1.43	17.96 ± 0.33	7.59 ± 0.13	54.38 ± 0.24	35.55 ± 0.24
<b>P10A</b>	0	9.15 ± 0.29	18.21 ± 0.75	7.81 ± 0.15	53.8 ± 0.11	35.18 ± 0.16
	96 h	8.73 ± 0.54	18.37 ± 1.45	7.82 ± 0.08	54.86 ± 0.37	36.13 ± 0.52

**Anexo 6. Valores de los parámetros fisicoquímicos para las pruebas de toxicidad de las estaciones de la bahía paracas, setiembre 2016.**

Estación	Tiempo	OD (mg/L)	T (°C)	pH	Cond. (mS/cm)	S‰
<b>M08</b>	0	9.07 ± 0.06	19.51 ± 1.03	7.82 ± 0.1	53.67 ± 0.14	35.15 ± 0.05
	96 h	8.81 ± 0.11	19.86 ± 0.14	7.99 ± 0.11	55.99 ± 1.34	36.67 ± 1.04
<b>M11</b>	0	9.04 ± 0.04	19.81 ± 0.47	7.9 ± 0.14	53.68 ± 0.13	35.13 ± 0.05
	96 h	8.65 ± 0.51	20.12 ± 0.16	7.93 ± 0.26	55.26 ± 0.83	36.37 ± 0.61
<b>M29</b>	0	8.45 ± 0.48	20.37 ± 0.21	8.07 ± 0.22	53.67 ± 0.32	35.2 ± 0.24
	96 h	8.17 ± 1.64	20.34 ± 0.2	7.81 ± 0.27	54.79 ± 0.86	35.99 ± 0.64
<b>P08</b>	0	8.37 ± 0.62	19.83 ± 0.4	7.57 ± 0.14	53.42 ± 0.25	35.12 ± 0.08
	96 h	8.82 ± 0.15	19.73 ± 0.19	8 ± 0.04	56.74 ± 1.23	37.44 0.94



**Anexo 7. Cultivo y mantenimiento de *A. purpuratus*.**



**Anexo 8. Preparación del elutriado del sedimento.**





**Anexo 9. Homogenización del elutriado.**



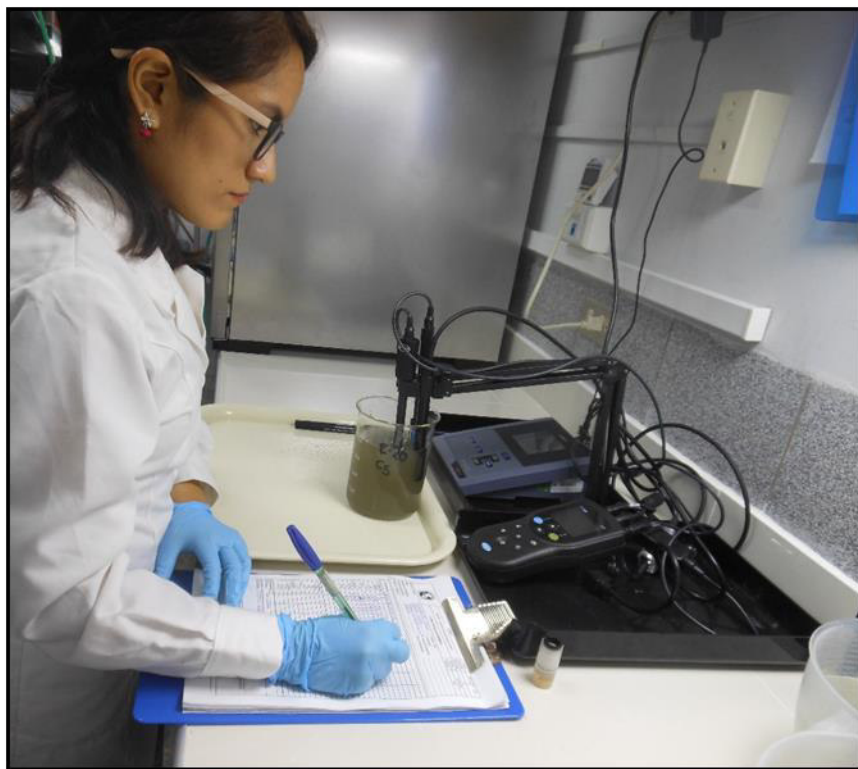
**Anexo 10. Proceso de sedimentación del elutriado.**



**Anexo 11. Diseño experimental de las pruebas de toxicidad.**



**Anexo 12. Diseño experimental de las pruebas de toxicidad.**



**Anexo 13. Medición de parámetros fisicoquímicos.**



**Anexo 14. Retiro de organismos muertos de *A. purpuratus* durante las pruebas de toxicidad.**